

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046123**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.08

(21) Номер заявки
202091600

(22) Дата подачи заявки
2018.12.31

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **КОНСТРУКЦИЯ НА ОСНОВЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИТЕЛА,
НАПРАВЛЕННАЯ НА MUC17 И CD3**

(31) **62/612,242; 62/687,063**

(32) **2017.12.29; 2018.06.19**

(33) **US**

(43) **2020.10.12**

(86) **PCT/US2018/068118**

(87) **WO 2019/133961 2019.07.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЭМДЖЕН ИНК. (US); ЭМДЖЕН
РИСЕРЧ (МЮНИК) ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Раум Тобиас (DE), Арведсон Тара,
Бейлис Джули (US), Дальхофф
Кристоф (DE), Росс Сандра, Чэнь
Ирвин (US), Блюмель Клаудиа,
Нарвольд Элизабет, Пендциалек
Йохен, Ван Йоахим (DE)**

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

(56) **WO-A2-2008119567**
WO-A1-2017134140
EP-A1-2172483
US-A1-2005100925
MONIAUX N. ET AL.: "Characterization of Human Mucin MUC17", J. BIOL. CHEM, vol. 281, no. 33, 18 August 2006 (2006-08-18), pages 23676-23685, XP008129451, ISSN: 1083-351X, DOI: 10.1074/JBC.M600302200 [retrieved on 2006-05-31], abstract, figure 5
S. SENAPATI ET AL.: "Expression of intestinal MUC17 membrane-bound mucin in inflammatory and neoplastic diseases of the colon", PubMed Central (PMC) Author Manuscript JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY, August 2010 (2010-08), pages 1-14, XP055560180, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2997570/pdf/nihms254309.pdf>, abstract, MATERIALS AND METHODS: Antibody; DISCUSSION

(57) В настоящем изобретении предусматриваются конструкции на основе биспецифических антител, характеризующиеся тем, что содержат первый домен, связывающийся с MUC17, второй домен, связывающийся с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и Масаса, и необязательно третий домен, который является специфической формой Fc. Кроме того, в настоящем изобретении предусматривается полинуклеотид, кодирующий конструкцию на основе антитела, вектор, содержащий этот полинуклеотид, клетки-хозяева, экспрессирующие конструкцию, и содержащая вышеуказанное фармацевтическая композиция.

B1

046123

046123 B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к продуктам и способам из области биотехнологии, в частности к конструкциям на основе биспецифических антител, их получению и их применению.

Предпосылки к созданию изобретения

Одними из наиболее быстро и многообещающе развивающихся терапевтических средств являются фармацевтические препараты на основе белка, которые уже играют важную роль практически во всех областях медицины и являются одними из самых востребованных терапевтических средств в (до)клинической разработке и в качестве коммерческих продуктов. (Leader, Nature Reviews Drug Discovery 2008 Jan 7, 21-39). По сравнению с лекарственными средствами на основе малых молекул белковые фармацевтические препараты обладают высокой специфичностью и активностью при относительно низких концентрациях и, как правило, предназначены для терапии заболеваний, значительно снижающих качество жизни, таких как различные виды рака, аутоиммунные заболевания и нарушения обмена веществ. (Roberts, Trends Biotechnol. 2014 Jul; 32(7):372-80, Wang, Int J Pharm. 1999 Aug 20;185(2):129-88).

Такие новые фармацевтические препараты на основе белка содержат, например, биспецифические (моноклональные) антитела, которые, как правило, могут одновременно связываться с двумя различными типами антигена. Они известны в нескольких структурных форматах, и к настоящему времени исследовались варианты их применения для иммунотерапии рака и доставки лекарственного средства (Fan, Gaowei; Wang, Zujian; Hao, Mingju; Li, Jinming (2015). "Bispecific antibodies and their applications". Journal of Hematology & Oncology. 8: 130).

Биспецифические антитела могут относиться к биспецифическим антителам IgG-типа, т.е. полно-размерным, или к биспецифическим антителам, отличным от IgG-типа, которые являются конструкциями не на основе полноразмерных антител. Полноразмерные биспецифические антитела, как правило, сохраняют традиционную структуру моноклонального антитела (mAb) из двух Fab-плечей и одного Fc-участка, за исключением того, что два Fab-сайта связываются с различными антигенами. У неполноразмерных биспецифических антител может полностью отсутствовать Fc-участок. Они включают химически связанные Fab, состоящие только из Fab-участков, и различные типы двухвалентных и трехвалентных одноцепочечных варибельных фрагментов (scFv). Существуют также слитые белки, имитирующие варибельные домены двух антител. Примером такого формата является биспецифический рекрутер Т-клетки (BiTE®) (Yang, Fa; Wen, Weihong; Qin, Weijun (2016). "Bispecific Antibodies as a Development Platform for New Concepts and Treatment Strategies". International Journal of Molecular Sciences. 18 (1):48).

Биспецифические молекулы, полученные из антитела, такие как конструкции на основе антител BiTE®, представляют собой рекомбинантные белковые конструкции, составленные из двух полученных из антитела связывающих доменов, соединенных гибкой связью. Один связывающий домен конструкций на основе антител BiTE® является специфичным для выбранного опухолеассоциированного поверхностного антигена на клетках-мишенях; второй связывающий домен является специфичным для CD3, субъединицы Т-клеточного рецепторного комплекса на Т-клетках. Благодаря своей особенной структуре конструкции на основе антител BiTE® уникальным образом подходят для временного соединения Т-клеток с клетками-мишенями и, в то же самое время, эффективно активируют цитолитический потенциал, присутствующий Т-клеткам, в отношении клеток-мишеней. Важным дальнейшим развитием конструкций первого поколения на основе антител BiTE® (см. WO 99/54440 и WO 2005/040220), разработанных в клинике как AMG 103 и AMG 110, явилось обеспечение конструкций на основе биспецифических антител, связывающихся с независимым от окружения эпитопом на N-конце цепи CD3ε (WO 2008/119567). Конструкции на основе антител BiTE®, связывающиеся с этим выбранным эпитопом, демонстрируют не только межвидовую специфичность в отношении цепи CD3ε человека и Macaca или Callithrix jacchus, Saguinus oedipus или Saimiri sciureus, но также за счет распознавания данного специфического эпитопа (вместо ранее описанных эпитопов связывающихся CD3 молекул в биспецифических молекулах, рекрутирующих Т-клетки), они не демонстрируют неспецифической активации Т-клеток в той же степени, как это наблюдалось у предыдущего поколения антител, рекрутирующих Т-клетки. Это снижение активации Т-клеток было связано с меньшим или сниженным перераспределением Т-клеток у пациентов, причем последнее было связано с риском возникновения побочных явлений, например, при приеме пасотуксимаба.

Описанные в WO 2008/119567 конструкции на основе антител, характеризуются быстрым выведением из организма; следовательно, хотя они способны быстро достигать большинства частей тела, их применения *in vivo* могут быть ограничены их кратковременным присутствием *in vivo*. С другой стороны, их концентрация в организме может быть адаптирована и откорректирована в короткий срок. Длительное введение путем непрерывной внутривенной инфузии используется для достижения терапевтических эффектов из-за короткого времени полужизни *in vivo* этой малой одноцепочечной молекулы. Однако, теперь доступны конструкции на основе биспецифических антител, которые имеют более предпочтительные фармакокинетические свойства, включая более длительное время полужизни. Увеличенное время полужизни, в общем, пригодно в применениях иммуноглобулинов *in vivo*, особенно антител и наиболее особенно фрагментов антител или конструкций небольшого размера, например, для соблюдения пациентом режима лечения.

Муцины были идентифицированы в качестве интересных маркеров воспалительных и раковых заболеваний. Муцины представляют собой высокомолекулярные гликопротеины, которые характеризуются высокими уровнями O-гликозилирования при остатках серина и треонина в пределах доменов с тандемным повтором (Johansson and Hansson, *Nat. Rev. Immunology* 2016). Существует по меньшей мере 20 членов семейства муцинов, включая секретлируемые белки и трансмембранные белки, которые экспрессируются эпителиальными клетками в различных тканях (Corfield, *Biochim. Biophys. Acta* 2013). Основная функция муцинов состоит в образовании структуры и регуляции слизистого слоя, который образует защитный барьер между эпителиальными клетками и окружающей средой (Hollingsworth and Swanson, *Nat. Rev. Cancer* 2004; Hattrop and Gendler, *Annu. Rev. Physiol.* 2008). Трансмембранные муцины также играют роль в передаче сигнала в клетках, включая регуляцию пролиферации и апоптоза, и в образовании опухолей (Hollingsworth and Swanson, *Nat. Rev. Cancer* 2004). Среди муцинов, муцин 17 (MUC17) представляет собой трансмембранный муцин, который изначально был идентифицирован по своей гомологии с MUC3 (Gum et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2002).

Анализ полной кодирующей последовательности MUC17 показал, что она имеет большой внеклеточный домен, состоящий из центрального участка из 61 тандемного повтора, домена эпидермального фактора роста (EGF), белка спермы морского ежа, домена энтерокиназы и агрина (SEA) и второго домена EGF. Домен SEA содержит предполагаемый сайт расщепления, который является консервативным в других муцинах (Moniaux et al., *J. Biol. Chem.* 2006). MUC17 представляет собой битопический трансмембранный белок с цитоплазматическим хвостом из 80 аминокислот, который является внутриклеточным (Moniaux et al., *J. Biol. Chem.* 2006). Экспрессия MUC17 у здоровых взрослых ограничена апикальной поверхностью энтероцитов, или зрелыми абсорбционными эпителиальными клетками, которые выстилают кишечник (Moniaux et al., *J. Biol. Chem.* 2006; Johansson and Hansson, *Nat. Rev. Immunology* 2016). MUC17 также экспрессируется в желудке и поджелудочной железе (Moniaux et al., *J. Biol. Chem.* 2006; Moehle et al., *J. Mol. Med.* 2006). Считается, что биологическая функция MUC17 состоит в поддержании целостности слизистого барьера в пищеварительном тракте, как например, в восстановлении слизистой оболочки (Luu et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010; Resta-Lenert et al., *Am. J. Physiology* 2011; Johansson and Hansson, *Nat. Rev. Immunology* 2016).

MUC17 ошибочно экспрессируется при некоторых видах рака. Было показано, что mRNA MUC17 экспрессируется в одной линии клеток рака поджелудочной железы и трех линиях клеток рака толстой кишки (Gum et al. 2002). Иммуногистохимические исследования подтвердили экспрессию белка MUC17 при раке поджелудочной железы (Moniaux et al. 2006). Однако было показано, что при раке толстой кишки экспрессия белка MUC17 снижалась (Senapati et al., *J. Clin. Pathol.* 2010). Тем не менее, модель экспрессии MUC17 делает его потенциальной мишенью для лечения различных форм злокачественных новообразований.

Краткое описание

Принимая во внимание противоречивые выводы в литературе в отношении патологического состояния, в отношении которого MUC17 является потенциальной мишенью, целью настоящего изобретения является четкая идентификация конкретных состояний, ассоциированных с повышенной экспрессией MUC17, и обеспечение конструкций на основе биспецифических антител, таких как молекулы, рекрутирующие Т-клетки, которые конкретно подходят для связывания MUC17 при ассоциированном с MUC17 состоянии, предпочтительно для применения в лечении указанных конкретных состояний. Соответственно, в настоящем изобретении предусматривается конструкция на основе антитела, характеризующаяся тем, что содержит первый домен, связывающийся с MUC17, второй домен, связывающийся с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или животного, отличного от человека, например, Маса-са, и предпочтительно третий домен, который является специфической формой Fc. Кроме того, в настоящем изобретении предусматривается полинуклеотид, кодирующий конструкцию на основе антитела, вектор, содержащий этот полинуклеотид, и клетки-хозяева, экспрессирующие конструкцию, и содержащая вышеуказанное фармацевтическая композиция.

В первом аспекте в контексте настоящего изобретения предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, содержащей:

первый домен, который связывается с MUC17; и

второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и Маса-са.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается, что конструкция на основе антитела содержит третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирный участок, домен CH2 и домен CH3, где указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, которая представляет собой одноцепочечную конструкцию на основе антитела.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где указанный третий домен содержит в направлении от ами-

ноконца к карбоксильному концу шарнирный участок-CH₂-CH₃-линкер-шарнирный участок-CH₂-CH₃.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где каждый из указанных полипептидных мономеров имеет аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где каждый из указанных полипептидных мономеров имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-24.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где домен CH₂ содержит внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где:

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

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

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

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

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый и второй домен слиты с третьим доменом посредством пептидного линкера.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где конструкция на основе антитела содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

(a) первый домен;

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

(c) второй домен.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где конструкция на основе антитела в дополнении к (a)-(c) содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

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

(e) первый полипептидный мономер третьего домена;

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

(g) второй полипептидный мономер третьего домена.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый домен конструкции на основе антитела связывается с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 528 (aa 4171-4296 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый домен конструкции на основе антитела связывается с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 529 (aa 4184-4291 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый домен конструкции на основе антитела связывается с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 530 (aa 4131-4243 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый домен конструкции на основе антитела связывается с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 531 (aa 4244-4389 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый домен конструкции на основе антитела связывается с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 530 (aa 4131-4243 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot), но не с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 531 (aa 4244-4389 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обес-

печение конструкции на основе антитела, где первый домен конструкции на основе антитела связывается с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 532 (aa 4171-4390 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot) или SEQ ID NO: 533 (aa 4184-4390 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot), но не с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 534 (aa 4291-4390 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot), или с эпитопом в пределах MUC17, который соответствует SEQ ID NO: 535 (aa 4341-4390 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где группировка VH VL приводится как 4 лямбда 3. Номенклатура известна из уровня техники.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где отношение цитотоксичности к аффинности связывания $(EC_{50}/K_D) \times 1000$ составляет менее 250, при этом цитотоксичность указана в пМ и определена с использованием клеток NUGC-4 в качестве в клеток-мишеней и в huPBMC в качестве эффекторных клеток, и при этом аффинность связывания указана в нМ и определена с помощью анализа на основе поверхностного плазмонного резонанса (SPR), как, например, анализ Biacore. Фактор 1000 был введен для лучшей разборчивости, учитывая различные величины для типичных значений EC_{50} и K_D .

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где отношение цитотоксичности к аффинности связывания $(EC_{50}/K_D) \times 1000$ составляет менее 125, при этом цитотоксичность указана в пМ и определена, например, с использованием клеток NUGC-4 в качестве в клеток-мишеней и в huPBMC в качестве эффекторных клеток, и при этом аффинность связывания указана в нМ и определена, например, с помощью анализа, основанного на поверхностном плазмонном резонансе (SPR).

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где отношение цитотоксичности к аффинности связывания $(EC_{50}/K_D) \times 1000$ составляет менее 21, при этом цитотоксичность указана в пМ и определена, например, с использованием клеток NUGC-4 в качестве в клеток-мишеней и в huPBMC в качестве эффекторных клеток, и при этом аффинность связывания указана в нМ и определена с помощью анализа, основанного на поверхностном плазмонном резонансе (SPR). Предпочтительно цитотоксичность (EC_{50}) составляет <100 пМ, и аффинность связывания (K_D) составляет <25 нМ.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый связывающий домен содержит участок VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

- (a) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 33, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 34, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 35;
- (b) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 44, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 45, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 46;
- (c) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 55, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 56, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 57;
- (d) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 66, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 67, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 68;
- (e) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 77, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 78, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 79;
- (f) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 88, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 89, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 90;
- (g) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 99, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 100, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 101;
- (h) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 110, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 111, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 112;
- (i) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 121, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 122, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 123;
- (j) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 132, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 133, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 134;
- (k) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 143, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 144, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 145;
- (l) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 154, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 155, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 156;
- (m) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 165, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 166, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 167;
- (n) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 176, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 177, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 178;
- (o) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 187, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 188, и

H3, приведенный под SEQ ID NO: 57;

(n) CDR-H1, приведенный под SEQ ID NO: 176, CDR-H2, приведенный под SEQ ID NO: 177, и CDR-H3, приведенный под SEQ ID NO: 178;

(ac) CDR-H1, приведенный под SEQ ID NO: 341, CDR-H2, приведенный под SEQ ID NO: 342, и CDR-H3, приведенный под SEQ ID NO: 343; и

(aj) CDR-H1, приведенный под SEQ ID NO: 418, CDR-H2, приведенный под SEQ ID NO: 419, и CDR-H3, приведенный под SEQ ID NO: 420.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антителя, где первый связывающий домен содержит участок VL, содержащий CDR-H1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

(a) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 36, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 37, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 38;

(b) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 47, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 48, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 49;

(c) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 58, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 59, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 60;

(d) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 69, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 70, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 71;

(e) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 80, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 81, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 82;

(f) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 91, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 92, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 93;

(g) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 102, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 103, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 104;

(h) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 113, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 114, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 115;

(i) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 124, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 125, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 126;

(j) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 135, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 136, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 137;

(k) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 146, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 147, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 148;

(l) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 157, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 158, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 159;

(m) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 170;

(n) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 179, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 180, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 181;

(o) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 190, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 191, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 192;

(p) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 201, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 202, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 203;

(q) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 212, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 213, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 214;

(r) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 223, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 224, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 225;

(s) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 234, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 235, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 236;

(t) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 245, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 246, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 247;

(u) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 256, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 257, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 258;

(v) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 267, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 268, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 269;

(w) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 278, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 279, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 280;

(x) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 289, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 290, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 291;

(y) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 300, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 301, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 302;

(z) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 311, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 312, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 313;

- (aa) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 322, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 323, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 324;
- (ab) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 333, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 334, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 335;
- (ac) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 344, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 345, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 346;
- (ad) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 355, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 356, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 357;
- (ae) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 366, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 367, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 368;
- (af) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 377, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 378, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 379;
- (ag) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 388, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 389, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 390;
- (ah) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 399, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 400, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 401;
- (ai) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 410, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 411, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 412;
- (aj) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 421, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 422, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 423;
- (ak) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 432, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 433, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 434;
- (al) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 443, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 444, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 445;
- (am) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 454, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 455, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 456;
- (an) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 465, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 466, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 467;
- (ao) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 476, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 477, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 478;
- (ap) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 487, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 488, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 489;
- (aq) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 498, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 499, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 500;
- (ar) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 509, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 510, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 511; и
- (as) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 520, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 521, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 522; где предпочтительными являются:
- (c) CDR-L1, приведенный под SEQ ID NO: 58, CDR-L2, приведенный под SEQ ID NO: 59, и CDR-L3, приведенный под SEQ ID NO: 60;
- (n) CDR-L1, приведенный под SEQ ID NO: 179, CDR-L2, приведенный под SEQ ID NO: 180, и CDR-L3, приведенный под SEQ ID NO: 181;
- (ac) CDR-L1, приведенный под SEQ ID NO: 344, CDR-L2, приведенный под SEQ ID NO: 345, и CDR-L3, приведенный под SEQ ID NO: 346; и
- (aj) CDR-L1, приведенный под SEQ ID NO: 421, CDR-L2, приведенный под SEQ ID NO: 422, и CDR-L3, приведенный под SEQ ID NO: 423.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где первый связывающий домен содержит участок VL и участок VH, выбранные из группы, состоящей из:

- (a) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 40, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 39;
- (b) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 51, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 50;
- (c) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 62, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 61;
- (d) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 73, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 72;
- (e) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 84, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 83;
- (f) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 95, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 94;
- (g) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 106, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 105;
- (h) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 117, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 116;
- (i) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 128, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 127;
- (j) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 139, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 138;

479;

(ap) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 491, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 490;

(aq) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 502, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 501;

(ar) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 513, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 512; и

(as) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 524, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 523.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где конструкция на основе антитела содержит последовательность, выбранную из аминокислотной последовательности, приведенной под любым из SEQ ID NO: 41, 52, 63, 74, 85, 96, 107, 118, 129, 140, 151, 162, 173, 184, 195, 206, 217, 228, 239, 250, 261, 272, 283, 294, 305, 316, 327, 338, 349, 360, 371, 382, 393, 404, 415, 426, 437, 448, 459, 470, 481, 492, 503, 514, и 525.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где конструкция на основе антитела содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

(a) первый домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, 52, 63, 74, 85, 96, 107, 118, 129, 140, 151, 162, 173, 184, 195, 206, 217, 228, 239, 250, 261, 272, 283, 294, 305, 316, 327, 338, 349, 360, 371, 382, 393, 404, 415, 426, 437, 448, 459, 470, 481, 492, 503, 514, и 525;

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

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

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

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, где конструкция на основе антитела дополнительно содержит в дополнении к (a)-(d) в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

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

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

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

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела, имеющей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 42, 43, 53, 54, 64, 65, 75, 76, 86, 87, 97, 98, 108, 109, 119, 120, 130, 131, 141, 142, 152, 153, 163, 164, 174, 175, 185, 186, 196, 197, 207, 208, 218, 219, 229, 230, 240, 241, 251, 252, 262, 263, 273, 274, 284, 285, 295, 296, 306, 307, 317, 318, 328, 329, 339, 340, 350, 351, 361, 362, 372, 373, 383, 384, 394, 395, 405, 406, 416, 417, 427, 428, 438, 439, 449, 450, 460, 461, 471, 472, 482, 483, 493, 494, 504, 505, 515, 516, 526 и 527.

Во втором аспекте в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение полинуклеотида, кодирующего конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению.

В третьем аспекте в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение вектора, содержащего полинуклеотид по настоящему изобретению.

В четвертом аспекте в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение клетки-хозяина, трансформированной или трансфицированной полинуклеотидом или вектором по настоящему изобретению.

В пятом аспекте в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение способа получения конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, при этом указанный способ включает культивирование клетки-хозяина по настоящему изобретению в условиях, обеспечивающих возможность экспрессии конструкции на основе антитела, и выделение полученной конструкции на основе антитела из культуры.

В шестом аспекте в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение фармацевтической композиции, содержащей конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению или полученную в соответствии со способом по настоящему изобретению.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается, что фармацевтическая композиция является стабильной в течение по меньшей мере четырех недель при приблизительно -20°C.

В контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе антитела по настоящему изобретению или полученной в соответствии со способом по настоящему изобретению для применения в предупреждении, лечении или уменьшении интенсивности заболевания, выбранного из пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, рака или иммунологического нарушения.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается, что заболевание представляет собой рак желудочно-кишечного тракта (например, рак желудка, рак пищевода, желудочно-пищеводный рак или колоректальный рак) или рак поджелудочной железы.

В пределах указанного аспекта в контексте настоящего изобретения также предусматривается, что заболевание представляет собой рак желудка.

В седьмом аспекте в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение способа лечения или уменьшения интенсивности пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, рака или иммунологического нарушения, включающего стадию введения субъекту, нуждающемуся в этом, конструкции на основе антитела по настоящему изобретению или полученной в соответствии со способом по настоящему изобретению, при этом заболевание предпочтительно представляет собой рак желудочно-кишечного тракта или рак поджелудочной железы, наиболее предпочтительно рак желудка.

В восьмом аспекте в контексте настоящего изобретения также предусматривается обеспечение набора, содержащего конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению или полученную в соответствии со способом по настоящему изобретению, полинуклеотид по настоящему изобретению, вектор по настоящему изобретению и/или клетку-хозяина по настоящему изобретению.

В девятом аспекте в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение способа лечения или уменьшения интенсивности рака желудочно-кишечного тракта, включающего стадию введения субъекту, нуждающемуся в этом, конструкции на основе биспецифического антитела, направленной в отношении MUC17 и CD3.

В десятом аспекте в контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается обеспечение конструкции на основе биспецифического антитела, направленной в отношении MUC17 и CD3, для применения в лечении или уменьшении интенсивности рака желудочно-кишечного тракта.

Описание графических материалов

На фиг. 1 показано связывание с кластерами эпитопов MUC17. Отмечены эпитопы E1, E2, E3, E4, E5A и 5B, а также усеченные варианты E2 (TR2, TR3, TR4 и TR5 соответственно). В экспериментах в отношении конструкций, где MUC17 человека (коричневый/серый) был заменен нефункциональным MUC3 мыши, выявили соответствующие эпитопы. Было идентифицировано 45 конструкций на основе биспецифических антител с scFc к MUC17, которые охватывают пространство эпитопа E2, содержащее домен SEA.

Фиг. 2. Картирование эпитопа MUC17 с помощью связывания с поверхностью клетки конструкций на основе биспецифических антител с scFc к MUC17 в отношении клеток, экспрессирующих химерные конструкции человека/мыши. Проводили оценку связывания с поверхностью клетки с помощью сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS), где потеря связывания с химерной конструкцией указывает на то, что соответствующий (подвергнутый мутации) домен является необходимым для связывания конструкций на основе биспецифических антител с scFc к MUC17. Например, E2 демонстрирует потерю связывания при мутации. Следовательно, E2 является необходимым для связывания всех четырех исследуемых конструкций на основе биспецифических антител.

Фиг. 3. MUC17 экспрессируется в линиях клеток рака желудка, поджелудочной железы и колоректального рака. Экспрессия белка клеточной поверхности MUC17 была определена с помощью проточной цитометрии живых клеток и изображена в виде считываемых данных FACS (A). Уровни mRNA MUC17 в линиях клеток рака определяли с помощью количественной полимеразной цепной реакции (qPCR). Значения нормализованы по значениям конститутивно экспрессируемого гена (B).

Фиг. 4. Анализ цитотоксичности с использованием трех различных линий клеток, несущих MUC17, с различной экспрессией MUC17 (A: GSU, B: NUGC-4 и C: Ls174T). Тестируемые конструкции представляют собой 1=32-G6; 2=1-B6; 3=2-C2 и 4=8-B7. Конструкция 8-B7 немного более предпочтительна в отношении цитотоксичности.

Фиг. 5. Растворимый белок MUC17 (sMUC17, aa 4131-4243 в Uniprot) добавляли в анализы TDCC при 0-1000 нг/мл и проводили оценку активности конструкций на основе биспецифических антител с scFc к MUC17 после инкубации в течение 48 ч (клетки-мишени GSU (A) или NUGC-4 (B), соотношение T-клеток человека к клеткам-мишеням 10:1, считываемые данные Steady Glo). Добавление sMUC17 не повлияло на цитотоксическую активность конструкций на основе биспецифических антител.

Фиг. 6. Конструкция 8-B7 на основе антитела с scFc к MUC17 ингибирует рост опухоли в модели ксенотрансплантата колоректального рака. Самкам мышей NOD/SCID имплантировали 2×10^6 клеток колоректального рака Ls174T. В день 15 посредством внутрибрюшинной (IP) инъекции вводили активированные T-клетки в увеличенном количестве 2×10^7 . Конструкцию на основе антитела с scFc к MUC17 до-

зировали IP в день 16 и день 22. Размер опухоли измеряли с помощью штангенциркулей.

Фиг. 7. Перечень предпочтительных конструкций на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением с групповым кодом (библиотека оптимизации), обозначением молекулы, кластером эпитопа, с которым связывается соответствующая конструкция, аффинностью (K_D) для SPR в [нМ], цитотоксической активностью (EC_{50}) в клетках NUGC-4 в [пМ], их соотношением (EC_{50}/K_D) $\times 1000$ и группировкой VH VL.

Фиг. 8. Конструкция 8-B7 на основе антитела с scFc к MUC17 также увеличивала время полужизни у яванского макака (А). Уровни воздействия соответствуют предполагаемым воздействиям. Яванским макакам (В) ($n=3$ на группу) вводили 100 мг/кг или 1000 мг/кг MUC17 HLE BiTE® в 0 ч. и 168 ч. Сыворотку крови собирали в указанные моменты времени и анализировали в отношении наличия конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 с применением ELISA, основанной либо на антителе к CD3, либо на антителе к MUC17. Данные сопоставляли с двухкомпонентной моделью. На графике показаны отдельные данные (точки) и среднее значение (линия).

Подробное описание изобретения

В контексте настоящего изобретения предусматривается конструкция на основе биспецифического антитела, нацеленная конкретно на MUC17, ассоциированный со злокачественным новообразованием. В связи с этим, первый MUC17 идентифицирован как ген, который характеризуется повышенной экспрессией в опухолях желудка относительно экспрессии в нормальной ткани. В связи с этим показано, что белок MUC17 экспрессируется в 40-77% опухолях желудка в соответствии с иммуногистохимическими способами исследования, распространенными в данной области техники. С помощью проточной цитометрии также продемонстрировано, что белок MUC17 экспрессируется на клеточной поверхности линий клеток рака желудка и линий клеток рака пищевода, в дополнение к некоторым линиям клеток рака поджелудочной железы и линиям клеток колоректального рака. Даже было показано, что такая экспрессия в частности выше в опухолях желудка у пациентов китайской национальности. Следовательно, MUC17 идентифицирован как пригодная мишень, ассоциированная с раком желудочно-кишечного тракта, т.е. желудочным раком, раком тонкой кишки и толстой кишки (ободочной кишки), раком пищевода и раком поджелудочной железы.

Неожиданным открытием в контексте настоящего изобретения является то, что конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно нацеливаются на раковые клетки, такие как клетки рака желудка и желудочно-кишечного тракта, несущие MUC17, и напротив, менее нацеливаются на клетки, отличные от раковых. В норме MUC17 экспрессируется на апикальной поверхности (т.е. расположенной на противоположной от основы стороне соответствующих клеток) кишечных эпителиальных клеток, отличных от раковых, и образует часть слизистого слоя. Однако MUC17 характеризуется сверхэкспрессией при раке желудка и желудочно-кишечного тракта и в таком случае не ограничен апикальной поверхностью, а также экспрессируется на поверхности, отличной от апикальной. Без ограничения теорией, MUC17 на апикальной поверхности считается менее доступным для конструкций на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением, при этом MUC17, экспрессируемый на поверхности, отличной от апикальной, в раковых клетках является более доступным. Следовательно, конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно нацеливаются на ассоциированные с MUC17 раковые клетки и менее предпочтительно на клетки, отличные от раковых. Это было неожиданно обнаружено при сравнении хорошей переносимости у здоровых животных с высокой противоопухолевой эффективностью в модели рака *in vivo*. Подробным образом, хотя иммуногистохимическое исследование подтвердило экспрессию MUC17 на апикальной поверхности ткани желудочно-кишечного тракта, такой как ткань тонкой кишки, отобранная у обезьян, оцениваемых в экспериментальном токсикологическом исследовании, преимущественно не было обнаружено гистопатологических изменений в ткани, экспрессирующей MUC17. Хорошая переносимость клеток, отличных от раковых, по отношению к конструкциям на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением аналогично подтверждена *in vitro*. И напротив, внутривенная обработка мышей, несущих опухоли, конструкцией на основе биспецифического антитела в соответствии с настоящим изобретением, приводит в результате к статистически значимому и зависимому от дозы ингибированию роста опухоли по сравнению с мышами, обрабатываемыми плацебо в контрольной группе. Соответственно, конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно переносятся пациентом и демонстрируют предпочтительно хорошо управляемую широту терапевтического действия, что не было ранее описано для любого нацеленного на MUC17 средства.

В контексте настоящего изобретения предусматриваются конструкции на основе биспецифических антител, связывающие участок EGF-SEA-EGF белка MUC17. Преимущественно нацеливание на данный участок белка обеспечивает селективность в отношении ближайших членов семейства (MUC3A, MUC3B, MUC12; например, Hollingsworth and Swanson, Nat. Rev. Cancer 2004) и способность связываться с мембраносвязанным MUC17. MUC17, как и другие трансмембранные муцины, содержит потенциальный сайт расщепления в пределах домена SEA.

Соответственно, в данном документе предусматриваются конструкции на основе биспецифических антител, которые нацеливаются на участок EGF-SEA-EGF и CD3 MUC17 и имеют одноцепочечный формат Fc для целенаправленного увеличения времени полужизни. Преимущественно конструкции на основе биспецифических антител по настоящему изобретению предпочтительно характеризуются аффинностью к клеткам-мишеням, несущим целевой MUC17 (K_D в виде однозначного числа в нМ), и эффективностью ($EC_{50} < 50$ пМ) для обеспечения нацеливания в отношении низких или неоднородных уровней MUC17 в клетках опухоли, представляющих интерес.

Предусматривается, что конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением обладают перекрестной реактивностью, например, в отношении MUC17 яванского макака (в дополнении к MUC17 человека), для обеспечения проведения неклинических токсикологических исследований. Значимость подробностей последовательности домена EGF-SEA-EGF MUC17 яванского макака представлена в данном документе в первый раз.

В контексте настоящего изобретения предусматривается, что конструкции на основе биспецифических антител проявляют аффинность связывания, высокую цитотоксическую активность и характеризуются наиболее стабильным нацеливанием на домен SEA.

В контексте настоящего изобретения предусматривается, что конструкции на основе биспецифических антител имеют цистеиновый зажим, т.е. внутримолекулярную дисульфидную связь, в целевом связующем средстве для улучшения стабильности.

В контексте настоящего изобретения предусматривается, что конструкция на основе биспецифического антитела, обеспеченная одноцепочечным фрагментом Fc(scFc) с увеличенным временем полужизни (HLE) и направленная в отношении MUC17, предназначена для применения в лечении видов рака желудочно-кишечного тракта, включая рак желудка, желудочно-пищеводный рак, рак пищевода, рак поджелудочной железы и колоректальный рак.

Кроме того, в контексте настоящего изобретения необязательно, но преимущественно предусматривается, что конструкция на основе антитела с scFc, т.е. HLE, обеспечивает возможность внутривенного дозирования, которое вводится только один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз в три недели или даже один раз в четыре недели или менее часто.

В контексте настоящего изобретения предпочтительным эпитопом, подлежащим терапевтическому нацеливанию, является идентифицированный с помощью начального элиминирования tandemных повторов MUC17, поскольку они высокогликозилированы и повторяются в последовательности. Это приводит, например, к неопределенному участку из 376 aa и участку из 177 aa EGF-подобного/SEA-домена. Преимущественно нацеливание на EGF-подобные/SEA-домены обеспечивает селективность в отношении ближайших членов семейства, таких как MUC3, перекрестную реактивность с MUC17 яванского макака и связывание с MUC17, связанным с клеточной мембраной. Затем авторы настоящего изобретения образовывали реагенты и анализы для оценки связывания и перенаправленного лизиса T-клетки, активации и высвобождения цитокина. Такие анализы применяли для подтверждения того, что предпочтительные конструкции на основе биспецифических антител соответствуют предварительно определенным профилям кандидатного продукта в отношении аффинности, цитотоксической активности и стабильности конструкции.

С целью определения эпитопа(эпитопов) предпочтительных конструкции на основе биспецифических антител, направленных на MUC17, было проведено картирование эпитопа, как описано в данном документе. Предпочтительные конструкции на основе биспецифических антител направлены на эпитоп E2 содержащий, домен SEA. Эпитоп E2 содержит аминокислотную (aa) последовательность, характеризующуюся в данном документе SEQ ID NO: 528. Это в сущности соответствует aa 4171-4296 MUC17 в соответствии с нумерацией Q685J3 в Uniprot. Как правило, нумерация aa MUC17 в контексте настоящего изобретения всегда делается или подразумевается со ссылкой на нумерацию MUC17 по Q685J3 в Uniprot. Напротив, конструкции на основе биспецифических антител, нацеленные на эпитоп E1 MUC17, т.е. эпитоп, расположенный N-терминально по отношению к домену SEA (см. фиг. 1), неожиданно показали нежелательную перекрестную реактивность с MUC3A и MUC3B, что приведет к нецелевой активности и, в конечном итоге, к увеличенному риску побочных эффектов. Более того, конструкции на основе биспецифических антител, направленные на эпитопы E3 и E4, расположенные C-терминально по отношению к домену SEA (см. фиг. 1), неожиданно не реагировали перекрестно с MUC17 яванского макака. Следовательно, предусматривается, что конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением конкретно и исключительно связываются с эпитопом E2 MUC17.

Такие предпочтительные конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением могут быть дополнительно указаны, основываясь на соответствии с их структурой или их уникальными подробными эпитопсвязывающими характеристиками. Предпочтительные конструкции на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением могут быть определены посредством расчета нового показательного соотношения цитотоксичности и аффинности, указанного в данном документе. Например, указанное соотношение $(EC_{50}/K_D) \times 1000$ предпочтительно составляет $<$ (менее) 250. Такое соотношение, как правило, является показательным хорошим связывания с усеченными вариантами эпитопа E2, т.е. TR2 (усеч. 2: SEQ ID NO: 532) и TR3 (усеч. 3: SEQ ID NO:

533), при этом соотношение $>$ (более) 250, как правило, является показателем хорошего связывания с TR2, но не с TR3. В частности, более предпочтительные конструкции, как правило, связываются с кластером эпитопа E2/E5A/частично 5B и/или TR2/TR3. Они демонстрируют, например, соотношение $(EC_{50}:K_D) \times 1000$ ниже приблизительно 21 и относятся к родственным семействам последовательностей (например, номенклатура библиотеки оптимизации (OPT) 4a, 4b, 5a и 10. Их группировка VH/VL предпочтительно описывается в данном документе как 4 лямбда 3 или "4I3".) Такие конструкции идентифицированы в контексте настоящего изобретения, например, как 8-A7, 8-B7, 8-B8, 8-C7, 8-H8, 8-D7, 4-E7, 8-F9, 1-A6, 8-H9, 1-B6, 8-F11 и 5-H1. Также предпочтительными являются конструкции, которые связываются с кластером эпитопа E2/E5A/частично 5B и/или TR2/TR3 и которые демонстрируют соотношение $EC_{50}:K_D$ ниже приблизительно 125, и относятся к семействам последовательностей (номенклатура библиотеки OPT) 1a, 1c и 9. Их группировка VH/VL описывается как 3 лямбда 3 или "3I3". Такие конструкции идентифицированы в контексте настоящего изобретения, как например, 2-D11, 8-E3, 32-G6, 2-C2, 9-C2, 1-B10, 4-B1, 4-F6, 4-G4, 4-A8, 4-B10, 4-H11 и 4-H2. Предпочтительными, но менее предпочтительными, чем два вышеуказанных семейства последовательностей, являются связующие средства, которые связываются с кластером эпитопа E2/частично E5A/частично 5B и/или TR2/частично TR3 и демонстрируют соотношение $(EC_{50}:K_D) \times 1000$ ниже приблизительно 1500, как правило в промежутке от 250 и до 1450, и относятся к семействам последовательностей (номенклатура библиотеки OPT) 6, 7 и 8. Их группировка VH/VL описывается как 2 каппа 3 или "3k3". В частности, предпочтительными в данном документе являются конструкции 32-G6 (SEQ ID NO: 65), 1-B6 (SEQ ID NO: 483), 2-C2 (SEQ ID NO: 428) и 8-B7 (SEQ ID NO: 186). В контексте настоящего изобретения аффинность в общем измеряется с помощью SPC, такой как анализ BiacoreB, и результаты, как правило, приводятся в нМ. Цитотоксическую активность, как правило, определяют с применением клеток NUGC-4 в качестве клеток-мишеней MUC17 и нестимулированных РВМС человека в качестве эффекторных клеток CD3.

В контексте настоящего изобретения предусматривается, что предпочтительные конструкции на основе биспецифических антител не только демонстрируют предпочтительное соотношение цитотоксичности к аффинности, но дополнительно демонстрируют достаточные характеристики стабильности с целью облегчить практическую обработку в составлении, хранении и введении указанных конструкций. Достаточная стабильность, например, характеризуется высоким содержанием мономера (т.е. неагрегированной и/или несвязанной нативной молекулы) после стандартного получения, как, например, по меньшей мере 65%, что определено с помощью препаративной эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC), более предпочтительно по меньшей мере 70% и еще более предпочтительно по меньшей мере 75%. Также измерялась мутность, например, при 340 нм оптическое поглощение при концентрации 2,5 мг/мл должно предпочтительно составлять 0,025 или меньше, более предпочтительно 0,020, например, с целью сделать вывод о фактическом отсутствии нежелательных агрегатов. Преимущественно высокое содержание мономера поддерживается после инкубации в стрессовых условиях, как, например, при заморозании/оттаивании или инкубации при 37 или 40°C.

Таким образом, в настоящем изобретении предусматривается конструкция на основе антитела, содержащая:

первый домен, который связывается с MUC17;

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

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

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусматривается конструкция на основе биспецифического антитела, содержащая все три таких домена.

Термин "конструкция на основе антитела" относится к молекуле, у которой структура и/или функция основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или целой молекуле иммуноглобулина. Конструкция на основе антитела, следовательно, способна к связыванию со своей конкретной мишенью или антигеном и/или она/они получена/получены из доменов переменного участка тяжелой цепи (VH) и/или переменного участка легкой цепи (VL) антитела или его фрагмента. Кроме того, домен, который связывается со своим партнером по связыванию в соответствии с настоящим изобретением, понимается в данном документе как связывающий домен конструкции на основе антитела в соответствии с настоящим изобретением. Как правило, связывающий домен в соответствии с настоящим изобретением предусматривает минимальные структурные требования к антителу, которые обеспечивают связывание мишени. Данное минимальное требование, например, может определяться как присутствие по меньшей мере трех CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участка VL) и/или трех CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участка VH-), предпочтительно всех шести CDR. Альтернативным подходом для определения минимальных структурных требований к антителу является определение эпитопа антитела в пределах структуры специфической мишени соответственно, белкового домена белка-мишени, образующего участок эпитопа (кластер эпитопа), или путем указания специфического антитела,

конкурирующего за эпитоп определенного антитела. Антитела, на которых основаны конструкции в соответствии с настоящим изобретением, включают, например, моноклональные, рекомбинантные, химерные, деиммунизированные, гуманизированные и человеческие антитела.

Связывающий домен конструкции на основе антитела в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать вышеуказанные группы CDR. Предпочтительно CDR расположены в карманном участке варибельного участка легкой цепи (VL) антитела и варибельного участка тяжелой цепи (VH) антитела; однако оно необязательно должно содержать оба участка. Fd-фрагменты, например, имеют два участка VH и часто сохраняют в некоторой мере антигенсвязывающую функцию интактного антигенсвязывающего домена. Дополнительные примеры формата фрагментов антител, вариантов антител или связывающих доменов включают (1) Fab-фрагмент, моновалентный фрагмент с доменами VL, VH, CL и CH1; (2) F(ab')₂-фрагмент, бивалентный фрагмент с двумя Fab-фрагментами, соединенными дисульфидным мостиком в шарнирном участке; (3) Fd-фрагмент с двумя доменами VH и CH1; (4) Fv-фрагмент с доменами VL и VH из одного плеча антитела, (5) dAb-фрагмент (Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546), который имеет домен VH; (6) выделенный участок, определяющий комплементарность (CDR), и (7) одноцепочечный Fv (scFv), причем последний является предпочтительным (например, получен из библиотеки scFv). Примеры вариантов осуществления конструкций на основе антител в соответствии с настоящим изобретением описаны, например, в WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO 2014/144722, WO 2014/151910 и WO 2015/048272.

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

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

Кроме того, определение термина "конструкция на основе антитела" включает моновалентные, бивалентные и поливалентные/мультивалентные конструкции и, следовательно, биспецифические конструкции, специфически связывающиеся только с двумя антигенными структурами, а также полиспецифические/мультиспецифические конструкции, которые специфически связывают более двух антигенных структур, например, трех, четырех или более, через определенные связывающие домены. Более того, определение термина "конструкция на основе антитела" включает молекулы, состоящие только из одной полипептидной цепи, а также молекулы, состоящие из более чем одной полипептидной цепи, цепи которых могут быть либо идентичными (гомодимеры, гомотримеры или гомоолигомеры), либо различными (гетеродимер, гетеротример или гетероолигомер). Примеры для определенных выше антител и вариантов или их производных описаны, помимо прочего, в Harlow and Lane, *Antibodies a laboratory manual*, CSHL Press (1988) и *Using Antibodies: a laboratory manual*, CSHL Press (1999), Kontermann and Dübel, *Antibody Engineering*, Springer, 2nd ed. 2010 и Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009.

Используемый в данном документе термин "биспецифический" относится к конструкции на основе антитела, которая является "по меньшей мере биспецифической", т.е. содержит по меньшей мере первый связывающий домен и второй связывающий домен, где первый связывающий домен связывается с одним антигеном или мишенью (в данном случае MUC17) и второй связывающий домен связывается с другим антигеном или мишенью (в данном случае CD3). Соответственно, конструкции на основе антител в соответствии с настоящим изобретением обладают специфичностью в отношении по меньшей мере двух различных антигенов или мишеней. Например, первый домен предпочтительно не связывается с внеклеточным эпитопом CD3ε одного или нескольких видов, как описано в данном документе. Термин "поверхно-

стный антиген клетки-мишени" относится к антигенной структуре, которая экспрессируется клеткой и которая присутствует на клеточной поверхности, поэтому она доступна для конструкции на основе антитела, описанной в данном документе. Он может являться белком, предпочтительно внеклеточной частью белка, или углеводной структурой, предпочтительно углеводной структурой белка, такой как гликопротеин. Предпочтительно он является опухолевым антигеном. Термин "конструкция на основе биспецифического антитела" по настоящему изобретению также охватывает мультиспецифические конструкции на основе антител, такие как триспецифические конструкции на основе антител, где последние включают три связывающих домена, или конструкции с более чем тремя (например, четырьмя, пятью и т.д.) видами специфичности.

Учитывая, что конструкции на основе антител в соответствии с настоящим изобретением являются (по меньшей мере) биспецифическими, они не встречаются в природе и сильно отличаются от продуктов природного происхождения. Следовательно, конструкция на основе "биспецифического" антитела или иммуноглобулин являются искусственным гибридным антителом или иммуноглобулином с по меньшей мере двумя различными связывающими участками с разными видами специфичности. Конструкции на основе биспецифических антител можно получать с помощью разнообразных способов, включающих слияние гибридом или связывание Fab'-фрагментов. См., например, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990).

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

Конструкции на основе антител по настоящему изобретению представляют собой предпочтительно "конструкции на основе антител, полученные *in vitro*". Этот термин относится к конструкции на основе антитела согласно определению выше, где весь переменный участок или его часть (например, по меньшей мере один CDR) получен в ходе отбора на неиммунных клетках, например, с помощью фагового дисплея *in vitro*, белкового чипа или любого другого способа, в котором кандидатные последовательности можно тестировать в отношении их способности к связыванию с антигеном. Предпочтительно этот термин исключает последовательности, созданные исключительно путем геномной перестройки в иммунной клетке животного. "Рекомбинантное антитело" представляет собой антитело, полученное с использованием технологии рекомбинантной ДНК или генной инженерии.

Термин "моноклональное антитело" (mAb) или конструкция на основе моноклонального антитела, применяемый в данном документе, относится к антителу, полученному из практически однородной популяции антител, т.е. отдельные антитела, образующие популяцию, являются идентичными за исключением возможных существующих в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, будучи направленными в отношении одного антигенного участка или одной детерминанты на антигене, в отличие от препаратов на основе традиционных (поликлональных) антител, которые, как правило, содержат различные антитела, направленные в отношении различных детерминант (или эпитопов). В дополнение к их специфичности, моноклональные антитела имеют преимущество в том, что они синтезируются гибридомой в культуре, не загрязненной другими иммуноглобулинами. Определение "моноклональное" указывает на природу антитела как полученного из практически однородной популяции антител, и его не следует толковать как требующий получения антитела с помощью какого-либо конкретного способа.

Для получения моноклональных антител можно применять любую методику, обеспечивающую получение антител с помощью непрерывных культур линий клеток. Например, моноклональные антитела, подлежащие применению, можно получать с помощью гибридомного способа, впервые описанного в Koehler et al., Nature, 256: 495 (1975), или можно получать с помощью способов рекомбинантных ДНК (см., например, патент США № 4816567). Примеры дополнительных методик получения человеческих моноклональных антител включают методику триомы, методику человеческой В-клеточной гибридомы (Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72) и методику EBV-гибридомы (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).

Гибридомы затем можно подвергать скринингу с применением стандартных способов, таких как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и анализ, основанный на поверхностном плазмонном

резонансе, например Biacore™, для идентификации одной или нескольких гибридом, продуцирующих антитело, специфично связывающееся с определенным антигеном. В качестве иммуногена можно применять любую форму релевантного антигена, например, рекомбинантный антиген, встречающиеся в природе формы, любые его варианты или фрагменты, а также его антигенный пептид. Поверхностный плазмонный резонанс, используемый в системе Biacore, можно использовать для повышения эффективности фаговых антител, связывающихся с эпитопом поверхностного антигена клетки-мишени, (Schiefer, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmberg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

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

В дополнение к применению дисплейных библиотек релевантный антиген можно применять для иммунизации животного, отличного от человека, например, грызуна (такого как мышь, хомяк, кролик или крыса). В одном варианте осуществления животное, отличное от человека, содержит по меньшей мере часть гена иммуноглобулина человека. Например, можно создавать линии мышей с дефицитом продуцирования антитела мыши, имеющего крупные фрагменты локусов генов Ig (иммуноглобулина) человека. С помощью гибридомной технологии можно получать и отбирать антиген-специфичные моноклональные антитела, получаемые из генов с требуемой специфичностью. См., например, XEN-OMOUSE™, Green et al. (1994) Nature Genetics 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096 и WO 96/33735.

Моноклональное антитело можно получить от отличного от человека животного, а затем можно получить модифицированное, например, гуманизированное, деиммунизированное, химерное, антитело с применением методик рекомбинантных ДНК, известных из уровня техники. Примеры модифицированных конструкций на основе антител включают гуманизированные варианты не являющихся человеческими антител, "афинно зрелые" антитела (см., например, Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) и Lowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991)) и мутантные антител с измененной эффекторной функцией(функциями) (см., например, патент США 5648260, Kontermann and Dübel (2010), loc. cit. и Little (2009), loc. cit).

В иммунологии созревание аффинности представляет собой процесс, при котором В-клетки продуцируют антитела с повышенной аффинностью к антигену в ходе иммунного ответа. При повторном воздействии того же антигена организм-хозяин будет продуцировать антитела с возрастающими показателями аффинности. Аналогично природному образцу, созревание аффинности *in vitro* основано на принципах мутации и селекции. Созревание аффинности *in vitro* успешно применяется для оптимизации антител, конструкций на основе антител и фрагментов антител. Случайные мутации внутри CDR вводятся с применением ионизирующего излучения, химических мутагенов или ПЦР с внесением ошибок. Кроме того, генетическое разнообразие может быть увеличено путем шаффлинга цепей. Два или три цикла мутации и селекции с применением таких способов дисплея, как фаговый дисплей, обычно приводят к появлению фрагментов антител с аффинностями в низком наномолярном диапазоне.

Предпочтительный тип аминокислотного замещающего варианта конструкций на основе антител включает замену одного или нескольких остатков гипервариабельного участка исходного антитела (например, гуманизированного или антитела человека). Как правило, полученные в результате варианты, отобранные для дополнительной разработки, должны иметь улучшенные биологические свойства относительно родительского антитела, из которого они получены. Удобный способ создания таких вариантов с заменами включает созревание аффинности с применением фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельного участка (например, 6-7 сайтов) подвергаются мутациям с получением всех возможных аминокислотных замен в каждом участке. Варианты антител, полученные таким образом, представлены в моновалентном виде на частицах нитевидного фага в виде молекул слияния с продуктом гена III M13, упакованных в каждой частице. Затем фаг-дисплейные варианты подвергаются скринингу в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания), как раскрыто в данном документе. Чтобы определить кандидатные участки гипервариабельного участка для проведения модификации, можно проводить аланин-сканирующий мутагенез для определения остатков гипервариабельного участка, которые вносят существенный вклад в связывание антигена. Как альтернатива или дополнительно, может быть целесообразным проведение анализа кристаллической структуры комплекса антиген-антитело для идентификации точек контакта между связывающим доменом и, например, MUC17 человека. Такие контактирующие остатки и соседние остатки являются кандидатами для замены согласно методикам, разработанным в данном документе. После создания таких вариантов панель вариантов подвергают описанному в данном документе скринингу, и антитела с превосходящими свойствами в одном или нескольких релевантных анализах можно отбирать для дальнейшей разработки.

Моноклональные антитела и конструкции на основе антител по настоящему изобретению, в частности, включают "химерные" антитела (иммуноглобулины), в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных из конкретного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, тогда как остальная часть це-

пи(цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных из другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также к фрагментам таких антител при условии, что они проявляют требуемую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Химерные антитела, представляющие интерес, в данном документе включают "приматизированные" антитела, содержащие антигенсвязывающие последовательности переменных доменов, полученные от отличного от человека примата (например, мартышковой обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п.), и последовательности константных участков человека. Были описаны разнообразные подходы к получению химерных антител. См. например, Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda et al., Nature 314:452, 1985; Cabilly et al., патент США № 4816567; Boss et al., патент США № 4816397; Tanaguchi et al., EP 0171496; EP 0173494 и GB 2177096.

Антитело, конструкция на основе антитела, фрагмент антитела или вариант антитела можно также модифицировать путем специфической делеции Т-клеточных эпитопов человека (способом, называемым "деиммунизация") посредством способов, раскрытых, например, в WO 98/52976 или WO 00/34317. Вкратце, переменные домены тяжелой и легкой цепей антитела можно анализировать в отношении наличия пептидов, которые связываются с МНС класса II; эти пептиды представляют потенциальные Т-клеточные эпитопы (по определению в WO 98/52976 и WO 00/34317). Для выявления потенциальных Т-клеточных эпитопов можно применять подход компьютерного моделирования, называемый "протягиванием пептидов", и, кроме того, в базе данных пептидов, связывающихся с молекулами МНС класса II человека, можно осуществить поиск мотивов, присутствующих в последовательностях VH и VL, как описано в WO 98/52976 и WO 00/34317. Эти мотивы связываются с любым из 18 основных DR-аллотипов МНС класса II и, таким образом, составляют потенциальные Т-клеточные эпитопы. Выявленные потенциальные Т-клеточные эпитопы можно устранить посредством замены небольшого количества аминокислотных остатков в переменных доменах или предпочтительно посредством одиночных аминокислотных замен. Обычно производят консервативные замены. Часто, но не исключительно, может использоваться аминокислота, обычно присутствующая в данном положении в последовательностях антител зародышевой линии человека. Последовательности зародышевой линии человека раскрыты, например, в Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; и Tomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 14:4628-4638. Директория V BASE представляет исчерпывающую директорию последовательностей переменных участков иммуноглобулина человека (составлена Tomlinson, LA. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Кембридж, Великобритания). Эти последовательности можно применять в качестве источника человеческих последовательностей, например, для каркасных участков и CDR. Также можно использовать консенсусные человеческие каркасные участки, например, описанные в патенте США № 6300064.

"Гуманизированные" антитела, конструкции на основе антител, их варианты или фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие последовательности антител) представляют собой антитела или иммуноглобулины преимущественно с последовательностями человека, которые содержат минимальное количество последовательности(последовательностей), полученных из иммуноглобулина, отличного от иммуноглобулина человека. Гуманизированные антитела по большей части представляют собой иммуноглобулины человека (антитело-реципиент), в которых остатки из гипервариабельного участка (также CDR) реципиента заменены остатками из гипервариабельного участка антитела от отличных от человека (например, грызуна) видов (антитело-донор), такого как мышь, крыса, хомяк или кролик, которое обладает требуемой специфичностью, аффинностью и способностью к связыванию. В некоторых случаях остатки Fv каркасного участка (FR) иммуноглобулина человека замещены соответствующими остатками, не являющимися человеческими. Кроме того, "гуманизированные антитела", применяемые в данном документе, могут также содержать остатки, не выявленные ни в антителе-реципиенте, ни в антителе-доноре. Эти модификации производят для дополнительного улучшения и оптимизации эффективности антител. Гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере часть константного участка иммуноглобулина (Fc), как правило, из человеческого иммуноглобулина. Подробнее см. Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); и Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992).

Гуманизированные антитела или их фрагменты можно создавать путем замены последовательностей переменного домена Fv, не участвующих непосредственно в связывании с антигеном, эквивалентными последовательностями переменных доменов Fv человека. Иллюстративные способы создания гуманизированных антител или их фрагментов представлены в Morrison (1985) Science 229:1202-1207; Oi et al. (1986) BioTechniques 4:214; и в US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 5859205 и US 6407213. Эти способы включают выделение последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих целые переменные домены Fv иммуноглобулина или их части из по меньшей мере одной тяжелой или легкой цепей, манипуляция с ними и их экспрессии. Такие нуклеиновые кислоты можно получать из гибридомы, продуцирующей антитело к предварительно определенной мишени, описанной выше, а также из других источников. Рекомбинантную ДНК, кодирующую молекулу гуманизированного антитела, можно затем клонировать в подходящий вектор экспрессии.

Гуманизированные антитела также можно получать, используя трансгенных животных, таких как мыши, которые экспрессируют гены тяжелой и легкой цепей человека, но не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина мыши. Winter описывает иллюстративный способ прививания CDR, который можно применять для получения гуманизированных антител, описанных в данном документе (патент США № 5225539). Каждый CDR конкретного антитела человека может быть по меньшей мере частично заменен CDR, не являющимся CDR человека, или только некоторые CDR могут быть заменены CDR, не являющимся CDR человека. Необходимо только заменить количество CDR, требующееся для связывания гуманизированного антитела с предварительно определенным антигеном.

Гуманизированное антитело можно оптимизировать путем введения консервативных замен, замен консенсусными последовательностями, замен остатками из конфигурации зародышевой линии и/или обратных мутаций. Такие измененные молекулы иммуноглобулинов можно получать согласно любой из нескольких методик, известных из уровня техники, (например, Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor et al., Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson et al., Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, и EP 239400).

Термин "антитело человека", "конструкция на основе антитела человека" и "связывающий домен человека" включает антитело, конструкции на основе антител и связывающие домены с участками антител, такими как переменный и константный участки или домены, которые соответствуют в основном последовательностям иммуноглобулина зародышевой линии человека, известным из уровня техники, включая, например, описанные в Kabat et al. (1991) (loc. cit.). Антитела человека, конструкции на основе антител или связывающие домены по настоящему изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями генов иммуноглобулинов человека в конфигурации зародышевой линии (например, в результате мутаций, вводимых посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматических мутаций *in vivo*), например в CDR, и, в частности, в CDR3. Человеческие антитела, конструкции на основе антител или связывающие домены могут содержать по меньшей мере одно, два, три, четыре, пять или более положений, замещенных аминокислотным остатком, не кодируемым последовательностью иммуноглобулина зародышевой линии человека. В определении антител человека, конструкций на основе антител и связывающих доменов, используемом в данном документе, также рассматриваются полные антитела человека, которые включают только не являющиеся искусственными и/или генетически измененные человеческие последовательности антител человека, такие как те, которые могут быть получены с применением технологий или систем, таких как Xenomouse. Предпочтительно "полностью человеческое антитело" не включает аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека.

В некоторых вариантах осуществления конструкции на основе антител по настоящему изобретению являются "выделенными" или "практически чистыми" конструкциями на основе антител. "Выделенный" или "практически чистый", применяемые для описания конструкций на основе антител, раскрытых в данном документе, означают конструкцию на основе антитела, которая была идентифицирована, отделена и/или извлечена из компонента ее среды получения. Предпочтительно конструкция на основе антитела не связана или, по сути, не связана со всеми остальными компонентами среды, в которой она продуцируется. Примеси в среде, в которой происходит продуцирование, такие как образующиеся из рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые, как правило, мешают диагностическому или терапевтическому применению полипептида, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. Конструкции на основе антител могут, например, представлять собой по меньшей мере приблизительно 5% или по меньшей мере приблизительно 50% по весу от общего белка в заданном образце. Понятно, что выделенный белок может составлять от 5 до 99,9% по весу от общего содержания белка в зависимости от обстоятельств. Полипептид можно получать в существенно большей концентрации посредством применения индуцируемого промотора или промотора, обеспечивающего высокий уровень экспрессии, так, чтобы он продуцировался при повышенных уровнях концентрации. Данное определение включает получение конструкции на основе антитела в широком ряде организмов и/или клеток-хозяев, которые известны из уровня техники. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения конструкцию на основе антитела очищают (1) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (2) до гомогенности по SDS-PAGE в невозстанавливающих или восстанавливающих условиях с применением окрашивания кумасси синим или предпочтительно серебром. При этом обычно конструкцию на основе антитела получают с помощью по меньшей мере одной стадии очистки.

Термин "связывающий домен" применительно к настоящему изобретению характеризует домен, который (специфически) связывается с/взаимодействует с/распознает указанный эпитоп-мишень или указанный участок-мишень на молекулах-мишенях (антигенах), в данном случае MUC17 и CD3 соответственно. Структура и функция первого связывающего домена (распознающего MUC17) и предпочтительно также структура и/или функция второго связывающего домена (распознающего CD3) основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина

и/или являются полученными из доменов варибельного участка тяжелой цепи (VH) и/или варибельного участка легкой цепи (VL) антитела или его фрагмента. Предпочтительно первый связывающий домен характеризуется наличием трех CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участка VL) и/или трех CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участка VH). Второй связывающий домен предпочтительно также предусматривает минимальные структурные требования антитела, которые обеспечивают связывание мишени. Более предпочтительно второй связывающий домен содержит по меньшей мере три CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участка VL) и/или три CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участка VH). Подразумевается, что первый и/или второй связывающий домен получают или могут быть получены с помощью способов фагового дисплея или скрининга библиотек, а не путем прививания последовательностей CDR из уже существующего (моноклонального) антитела в каркас.

В соответствии с настоящим изобретением связывающие домены имеют форму одного или нескольких полипептидов. Такие полипептиды могут содержать белковые части и небелковые части (например, химические линкеры или химические перекрестно-сшивающие средства, такие как глутаральдегид). "Белки" (в том числе их фрагменты, предпочтительно биологически активные фрагменты, и пептиды, обычно имеющие менее 30 аминокислот) содержат две или более аминокислот, соединенных друг с другом ковалентной пептидной связью (с образованием в результате цепи аминокислот).

Термин "полипептид", применяемый в данном документе, описывает группу молекул, содержащих обычно более 30 аминокислот. Полипептиды могут дополнительно образовывать мультимеры, такие как димеры, тримеры и высшие олигомеры, т.е. содержащие более одной молекулы полипептида. Молекулы полипептидов, образующие такие димеры, тримеры и т.п., могут быть идентичными или неидентичными. Соответствующие структуры высшего порядка таких мультимеров, следовательно, называются гомо- или гетеродимерами, гомо- или гетеротримерами и т.п. Примером гетеромультимера является молекула антитела, которая в своей существующей в природе форме содержит две идентичные легкие полипептидные цепи и две идентичные тяжелые полипептидные цепи. Термины "пептид", "полипептид" и "белок" также относятся к модифицированным естественным образом пептидам/полипептидам/белкам, где модификация осуществляется посредством, например, посттрансляционных модификаций, таких как гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. "Пептид", "полипептид" или "белок", упоминаемые в данном документе, могут быть также модифицированы химическим путем, как например, посредством пегилирования. Такие модификации хорошо известны из уровня техники и описаны ниже в данном документе.

Предпочтительно связывающий домен, который связывается с MUC17, и/или связывающий домен, который связывается с CD3ε, являются связывающими доменами человека. Антитела и конструкции на основе антител, содержащие по меньшей мере один связывающий домен человека, позволяют избежать ряда проблем, связанных с антителами или конструкциями на основе антител, которые имеют варибельные и/или константные участки, не относящиеся к человеческим, такие как участки от грызунов (например, мыши, крысы, хомяка или кролика). Присутствие таких белков, полученных из организма грызуна, может приводить к быстрому выведению антител или конструкций на основе антител или может приводить к выработке иммунного ответа на антитело или конструкцию на основе антитела у пациента. Чтобы избежать применения полученных от грызунов антител или конструкций на основе антител, можно создавать человеческие или полностью человеческие антитела/конструкции на основе антител путем введения в организм грызуна функциональных участков человеческого антитела так, чтобы у грызуна продуцировались полностью человеческие антитела.

Возможность клонировать и воссоздавать локусы человека размером порядка миллиона пар оснований в дрожжевых искусственных хромосомах YAC и вводить их в мышиную зародышевую линию обеспечивает эффективный подход для изучения функциональных компонентов очень крупных или грубо картированных локусов, а также для создания пригодных моделей заболевания человека. Кроме того, применение такой технологии для замены мышинных локусов их человеческими эквивалентами может обеспечить уникальную информацию об экспрессии и регуляции генных продуктов человека во время развития, их взаимодействии с другими системами и их роли в индуцировании и прогрессировании заболеваний.

Важным практическим применением такой стратегии является "гуманизация" гуморальной иммунной системы мыши. Введение локусов иммуноглобулина (Ig) человека в организм мышей, у которых были инактивированы эндогенные гены Ig, предоставляет возможность изучения механизмов, лежащих в основе программируемой экспрессии и сборки антител, а также их роли в развитии В-клеток. Кроме того, такая стратегия может обеспечить идеальный источник для получения полностью человеческих моноклональных антител (mAb) - ключевой точки на пути к созданию терапевтических средств на основе антител для лечения заболеваний человека. Ожидается, что полностью человеческие антитела или конструкции на основе антител сведут к минимуму иммуногенные и аллергические ответы, присущие мышинным или полученным от мышей mAb, и, следовательно, повысят эффективность и безопасность вводимых антител/конструкций на основе антител. Можно ожидать, что применение полностью человеческих антител или конструкций на основе антител обеспечит существенное преимущество в лечении хронических и рецидивирующих заболеваний человека, таких как воспаление, аутоиммунные реакции и рак, при

которых требуются повторные введения соединений.

Один подход в направлении этой цели состоял в конструировании мышинных линий с дефицитом продуцирования мышинных антител с большими фрагментами локусов Ig человека в ожидании, что такие мыши будут вырабатывать большой репертуар человеческих антител в отсутствие мышинных антител. Большие фрагменты Ig человека должны сохранять широкое разнообразие переменных генов, а также надлежащее регулирование продуцирования и экспрессии антитела. При применении мышинного аппарата для расширения разнообразия и отбора антител и отсутствии иммунологической толерантности к человеческим белкам, воспроизведенный репертуар человеческих антител в этих мышинных штаммах должен привести к получению высокоаффинных антител к любому представляющему интерес антигену, включая человеческие антигены. Используя гибридную технологию, можно легко получать и проводить отбор антиген-специфических человеческих mAb с необходимой специфичностью. Эта общая стратегия была продемонстрирована в связи с созданием первых линий мышей XenoMouse (см. Green et al. *Nature Genetics* 7:13-21 (1994)). Были сконструированы линии XenoMouse с дрожжевыми YAC, содержащими фрагменты размером 245 т. о. и 190 т. о. конфигурации зародышевой линии человеческого локуса тяжелой цепи и локуса каппа легкой цепи соответственно, которые содержали внутренние последовательности переменного и константного участков. Содержащие Ig человека YAC, оказались совместимыми с мышинной системой в отношении как перестройки, так и экспрессии антител, и были способны заменять инактивированные гены Ig мыши. Это было продемонстрировано их способностью индуцировать развитие В-клеток, продуцировать человеческий репертуар взрослого типа полностью человеческих антител и продуцировать антиген-специфические человеческие mAb. Эти результаты также позволяют предположить, что введение более крупных частей человеческих локусов Ig, содержащих большее количество V-генов, дополнительных регуляторных элементов и константных участков человеческого Ig, может практически повторять полный репертуар, который характерен для гуморального ответа человека на инфекцию и иммунизацию. Работа Green et al. была недавно расширена до введения более приблизительно 80% репертуара антител человека путем введения фрагментов YAC размером порядка миллиона пар оснований конфигурации зародышевой линии человеческого локуса тяжелой цепи и локуса легкой каппа-цепи соответственно. См. Mendez et al. *Nature Genetics* 15:146-156 (1997) и заявку на патент США с порядковым № 08/759620.

Получение животных XenoMouse дополнительно обсуждается и описывается в заявках на патент США с порядковым № 07/466008, порядковым № 07/610515, порядковым № 07/919297, порядковым № 07/922649, порядковым № 08/031801, порядковым № 08/112848, порядковым № 08/234145, порядковым № 08/376279, порядковым № 08/430938, порядковым № 08/464584, порядковым № 08/464582, порядковым № 08/463191, порядковым № 08/462837, порядковым № 08/486853, порядковым № 08/486857, порядковым № 08/486859, порядковым № 08/462513, порядковым № 08/724752 и порядковым № 08/759620; и патентах США № 6162963; 6150584; 6114598; 6075181 и 5939598, и патентах Японии № 3068180 B2, 3068506 B2 и 3068507 B2. См. также Mendez et al. *Nature Genetics* 15:146-156 (1997) и Green and Jakobovits J. *Exp. Med.* 188:483-495 (1998), EP 0463151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310 и WO 03/47336.

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

Kigin также продемонстрировал создание человеческих антител с использованием мышей, которым вводили крупные участки хромосом или целые хромосомы посредством опосредованного микроклетками слияния. См. заявки на Европейский патент № 773288 и 843961. Xenex Biosciences разрабатывают технологию для потенциального создания человеческих антител. В этой технологии мышей SCID восстанавливают с помощью человеческих лимфатических клеток, например, В- и/или Т-клеток. Затем мышей иммунизируют антигеном и у них может индуцироваться иммунный ответ на этот антиген. См. патенты США № 5476996; 5698767 и 5958765.

Ответы антитела человека к Ig мыши (НАМА) привели в данной отрасли к созданию химерных или иным способом гуманизированных антител. При этом ожидается, что будут наблюдаться ответы некоторых антител человека к химерам (НАСА), в частности, при постоянном или многодозовом применении антитела. Таким образом, будет желательным получить конструкции на основе антител, содержащие человеческий связывающий домен к MUC17 и человеческий связывающий домен к CD3ε, чтобы свести на нет опасения и/или эффекты относительно ответа НАМА или НАСА.

Термины "(специфически) связывается с", "(специфически) распознает", "(специфически) направлен на" и "(специфически) вступает в реакцию с" в соответствии с настоящим изобретением означают, что связывающий домен взаимодействует или специфически взаимодействует с определенным эпитопом или определенным участком на молекулах-мишенях (антигенах), в данном случае MUC17 и CD3ε соответственно.

Термин "эпитоп" относится к участку антигена, с которым специфически связывается связывающий домен, такой как антитело или иммуноглобулин или производное, фрагмент или вариант антитела или иммуноглобулина. "Эпитоп" является антигенным, и поэтому термин "эпитоп" иногда также упоминается в данном документе как "антигенная структура" или "антигенная детерминанта". Таким образом, связывающий домен представляет собой "участок взаимодействия с антигеном". Указанное связывание/взаимодействие также понимают как определяющее "специфичное распознавание".

"Эпитопы" могут быть образованы как смежными аминокислотами, так и несмежными аминокислотами, размещенными рядом при укладке белка в третичную структуру. "Линейный эпитоп" представляет собой эпитоп, где первичная аминокислотная последовательность образует распознаваемый эпитоп. Линейный эпитоп, как правило, содержит по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4, и чаще по меньшей мере 5 или по меньшей мере 6, или по меньшей мере 7, например, от приблизительно 8 до приблизительно 10 аминокислот в уникальной последовательности.

"Конформационный эпитоп", в отличие от линейного эпитопа, представляет собой эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот, образующая эпитоп, не является единственным определяющим компонентом распознаваемого эпитопа (например, эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот не обязательно распознается связывающим доменом). Обычно конформационный эпитоп содержит увеличенное количество аминокислот по сравнению с линейным эпитопом. В отношении распознавания конформационных эпитопов связывающий домен распознает трехмерную структуру антигена, предпочтительно пептид или белок или его фрагмент (в контексте настоящего изобретения антигенная структура для одного из связывающих доменов содержится в пределах белка поверхностного антигена клетки-мишени). Например, когда молекула белка подвергается укладке с образованием трехмерной структуры, определенные аминокислоты и/или полипептидный остов, образующие конформационный эпитоп, оказываются размещенными рядом друг с другом, что делает возможным распознавание эпитопа антителом. Способы определения конформации эпитопов включают без ограничения рентгеновскую кристаллографию, двумерную спектроскопию ядерного магнитного резонанса (2D-ЯМР) и спектроскопию электронного парамагнитного резонанса (EPR) с сайт-направленным спин-мечением.

Способ картирования эпитопов описан следующим образом: когда участок (непрерывный аминокислотный сегмент) в MUC17 человека заменяют или замещают соответствующим участком MUC17, не принадлежащего человеку и примату (например, MUC17 мыши, но другие, такие как куриные, крысиные, хомячьи, кроличьи и т.д., также допускаются), ожидается снижение связывания связывающего домена, если только связывающий домен не является перекрестно-реактивным для применения с MUC17, не принадлежащего человеку и примату. Указанное снижение предпочтительно составляет по меньшей мере 10, 20, 30, 40 или 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60, 70 или 80% и наиболее предпочтительно 90, 95 или даже 100% по сравнению со связыванием с соответствующим участком белка MUC17 человека, где связывание с соответствующим участком белка MUC17 человека принято за 100%. Предусматривается, что вышеупомянутые MUC17 человека/MUC17, не являющегося человеческим, экспрессируются в клетках CHO. Также предусматривается, что MUC17 человека/MUC17, не являющегося человеческим, слиты с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом другого мембраносвязанного белка, такого как ErCAM.

В альтернативном или дополнительном способе картирования эпитопа можно создавать несколько усеченных вариантов внеклеточного домена MUC17 человека, чтобы определить специфический участок, который распознается связывающим доменом. В этих усеченных вариантах различные домены/субдомены или участки внеклеточного MUC17 поэтапно удаляют, начиная с N-конца. Предусматривается, что усеченные варианты MUC17 могут экспрессироваться в клетках CHO. Также предусматривается, что усеченные варианты MUC17 могут быть слиты с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом другого мембраносвязанного белка, такого как ErCAM. Также предусматривается, что усеченные варианты MUC17 могут содержать сигнальный пептидный домен на своем N-конце, например сигнальный пептид, который получен из сигнального пептида тяжелой цепи IgG мыши. Более того, предусматривается, что усеченные варианты MUC17 могут содержать домен v5 на своем N-конце

(после сигнального пептида), что позволяет подтвердить их правильную экспрессию на клеточной поверхности. Ожидается, что снижение или потеря связывания будут происходить в случае тех усеченных вариантов MUC17, которые больше не содержат участок MUC17, который распознается связывающим доменом. Снижение связывания предпочтительно составляет по меньшей мере 10, 20, 30, 40, 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60, 70, 80% и наиболее предпочтительно 90, 95 или даже 100%, причем связывание с целым человеческим белком MUC17 (или его внеклеточным участком или доменом) принято за 100.

Дополнительный способ определения вклада конкретного остатка MUC17 в распознавание конструкцией на основе антитела или связывающим доменом представляет собой сканирование аланином (см., например, Morrison KL & Weiss GA. *Curr Opin Chem Biol.* 2001 Jun;5(3):302-7), где каждый анализируемый остаток заменяют на аланин, например, посредством сайт-направленного мутагенеза. Применение аланина обусловлено наличием в нем небольшой, химически инертной метильной функциональной группы, которая, тем не менее, имитирует предпочтения к вторичной структуре, которыми обладают многие другие аминокислоты. В тех случаях, когда требуется сохранить размер остатков, подвергнутых мутации, иногда можно использовать крупные аминокислоты, такие как валин или лейцин. Сканирование аланином является проверенной технологией, которую используют уже длительное время.

Взаимодействие между связывающим доменом и эпитопом или участком, содержащем эпитоп, означает, что связывающий домен демонстрирует приемлемую аффинность в отношении эпитопа/участка, содержащего эпитоп, в конкретном белке или антигене (в данном случае MUC17 и CD3 соответственно) и, в целом, не проявляет существенной реактивности с белками или антигенами, отличными от MUC17 или CD3. "Значимая аффинность" включает связывание с аффинностью, составляющей приблизительно 10^{-6} М (KD) или выше. Предпочтительно связывание считается специфичным, если аффинность связывания составляет приблизительно 10^{-12} - 10^{-8} М, 10^{-12} - 10^{-9} М, 10^{-12} - 10^{-10} М, 10^{-11} - 10^{-8} М, предпочтительно приблизительно 10^{-11} - 10^{-9} М. Специфичность реакции или связывания связывающего домена с мишенью можно легко проверить с помощью, среди прочих, сравнения реакции указанного связывающего домена с белком- или антигеном-мишенью и реакции указанного связывающего домена с белками или антигенами, отличными от MUC17 или CD3. Предпочтительно связывающий домен по настоящему изобретению по сути или практически не связывается с белками или антигенами, отличными от MUC17 или CD3 (т.е. первый связывающий домен не способен к связыванию с белками, отличными от MUC17, и второй связывающий домен не способен к связыванию с белками, отличными от CD3). Подразумеваемой характеристикой конструкций на основе антител в соответствии с настоящим изобретением является то, что они имеют превосходящие характеристики аффинности по сравнению с другими HLE-форматами. Следовательно, такая превосходящая аффинность предполагает продленное время полужизни *in vivo*. Более длительное время полужизни конструкций на основе антител в соответствии с настоящим изобретением может снизить длительность и частоту введения, что, как правило, влияет на улучшение соблюдения пациентом режима лечения. Это является исключительно важным, поскольку конструкции на основе антител по настоящему изобретению являются исключительно благоприятными для сильно ослабленных или даже полиморбидных пациентов с раком.

Термин "по сути/практически не связывается" или "не способен к связыванию" означает, что связывающий домен по настоящему изобретению не связывается с белком или антигеном, отличным от MUC17 или CD3, т.е. не проявляет реактивность, составляющую более 30%, предпочтительно не более 20%, более предпочтительно не более 10%, особенно предпочтительно не более 9, 8, 7, 6 или 5% с белками или антигенами, отличными от MUC17 или CD3, где связывание с MUC17 или CD3 соответственно принято за 100%.

Полагают, что специфичное связывание осуществляется благодаря специфическим мотивам в аминокислотной последовательности связывающего домена и антигена. Таким образом, связывание достигается за счет их первичной, вторичной и/или третичной структуры, а также за счет вторичных модификаций указанных структур. Специфичное взаимодействие сайта, взаимодействующего с антигеном, и его специфичного антигена может приводить к простому связыванию указанного сайта с антигеном. Более того, специфичное взаимодействие части, взаимодействующей с антигеном, и ее специфического антигена может в качестве альтернативы или дополнительно приводить к возникновению сигнала, например, в связи с индукцией изменения конформации антигена, олигомеризации антигена и т.п.

Термин "вариабельный" относится к частям доменов антител или иммуноглобулинов, у которых проявляется вариабельность их последовательности, а также участвующим в определении специфичности и аффинности связывания конкретного антитела (т.е. к "вариабельному(вариабельным) домену(доменам)"). Посредством спаривания вариабельного участка тяжелой цепи (VH) и вариабельного участка легкой цепи (VL) образуется единый антигенсвязывающий участок.

Вариабельность неравномерно распределена между вариабельными доменами антител; она сконцентрирована в субдоменах каждого из вариабельных участков тяжелой и легкой цепей. Эти субдомены называются "гипервариабельными участками" или "участками, определяющими комплементарность" (CDR). Более консервативные (т.е. не являющиеся гипервариабельными) участки вариабельных доменов называются "каркасными" участками (FRM или FR) и обеспечивают каркас для шести CDR в трехмер-

ном пространстве для образования антигенсвязывающей поверхности. Каждый из вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей природного происхождения содержит четыре FRM-участка (FR1, FR2, FR3 и FR4), принимающих большей частью β -складчатую конфигурацию, соединенных тремя гипервариабельными участками, которые образуют петли, соединяющие, и в некоторых случаях образующие часть β -складчатой структуры. Гипервариабельные участки в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости с помощью FRM и вместе с гипервариабельными участками другой цепи способствуют образованию антигенсвязывающего участка (см. Kabat et al., loc. cit.).

Термин "CDR" и его множественное число относятся к участку, определяющему комплементарность, три из которых придают связывающий характер вариабельному участку легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), а еще три придают связывающий характер вариабельному участку тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3). CDR содержат большинство остатков, отвечающих за специфическое взаимодействие антитела с антигеном и, следовательно, вносят свой вклад в функциональную активность молекулы антитела: они являются основными детерминантами специфичности к антигену.

Точное определение границ и размеров CDR является предметом различных классификаций и систем нумерации. Соответственно, CDR могут быть указаны согласно Kabat, Chothia, контактной или любой другой системе определения границ, включающей систему нумерации, описанную в данном документе. Несмотря на различающиеся границы, каждая из этих систем имеет определенную степень перекрытия, представляющую так называемые "гипервариабельные участки" в вариабельных последовательностях. Следовательно, определения CDR в соответствии с этими системами могут отличаться по длине и граничным участкам по отношению к прилегающему каркасному участку. См. например Kabat (подход, основанный на межвидовой вариабельности последовательностей), Chothia (подход, основанный на кристаллографических исследованиях комплексов антиген-антитело) и/или MacCallum (Kabat et al., loc. cit.; Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 1987, 196: 901-917; и MacCallum et al., *J. Mol. Biol.*, 1996, 262: 732). Еще одним стандартом для характеристики антигенсвязывающего участка является определение AbM, используемое в программном обеспечении для моделирования антител AbM от Oxford Molecular. См., например, *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*. В *Antibody Engineering Lab Manual* (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). В случае если две методики идентификации остатков определяют остатки перекрывающихся, но не идентичных участков, их можно комбинировать для определения гибридной CDR. Однако нумерация в соответствии с так называемой системой Kabat является предпочтительной.

Обычно CDR образуют петлевую структуру, которая может быть отнесена к канонической структуре. Термин "каноническая структура" относится к конформации основной цепи, принимаемой антигенсвязывающими петлями (CDR). По результатам сравнительных структурных исследований было обнаружено, что пять из шести антигенсвязывающих петель имеют только ограниченный набор доступных конформаций. Каждая каноническая структура может характеризоваться спиральными углами полипептидного остова. Следовательно, соответствующие петли среди антител могут характеризоваться высокой степенью подобию трехмерных структур, несмотря на высокую аминокислотную вариабельность в большинстве частей петель (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 1987, 196: 901; Chothia et al., *Nature*, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, *J. Mol. Biol.*, 1996, 263: 800). Кроме того, существует взаимосвязь между принимаемой петлей структурой и окружающими ее аминокислотными последовательностями. Конформация конкретного канонического класса определяется длиной петли и аминокислотными остатками, находящимися в ключевых положениях в петле, а также в пределах консервативного каркасного участка (т.е. вне петли). Таким образом, отнесение к конкретному каноническому классу можно проводить на основании присутствия этих ключевых аминокислотных остатков.

Термин "каноническая структура" может также включать аспекты, относящиеся к линейной последовательности антитела, например перечисленные согласно Kabat (Kabat et al., loc. cit.). Схема (система) нумерации по Kabat является широко распространенным стандартом нумерации аминокислотных остатков вариабельного домена антитела последовательным образом и является предпочтительной схемой, применяемой в настоящем изобретении, что также упоминается в другом месте данного документа. Для определения канонической структуры антитела также можно использовать дополнительные структурные факторы. Например, различия, не в полной мере отображаемые системой нумерации по Kabat, можно описать с помощью системы нумерации по Chothia et al. и/или выявить с помощью других методик, например, кристаллографии или двух- или трехмерного компьютерного моделирования. Соответственно, указанную последовательность антитела можно поместить в канонический класс, что позволяет, среди прочих, проводить идентификацию соответствующих последовательностей каркасных участков (например, на основании необходимости включения разнообразных канонических структур в библиотеку). Система нумерации аминокислотных последовательностей антител по Kabat и структурные особенности, описанные Chothia et al., loc. cit, а также их значение для интерпретации канонических аспектов структуры антитела описаны в литературе. Структурные субъединицы и трехмерные конфигурации иммуноглобулинов различных классов хорошо известны из уровня техники. В отношении обзора структуры антитела см. *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988.

CDR3 легкой цепи и в особенности CDR3 тяжелой цепи могут составлять наиболее важные детерминанты в связывании антигена в пределах переменных участков легкой и тяжелой цепей. В некоторых конструкциях на основе антител CDR3 тяжелой цепи составляет основную площадь контакта между антигеном и антителом. Схемы отбора *in vitro*, в которых варьирует только CDR3, могут использоваться для изменения свойств связывания антитела или определения того, какие остатки способствуют связыванию антигена. Следовательно, CDR3 обычно является источником наибольшего молекулярного разнообразия в связывающем сайте антитела. Например, H3 может иметь длину всего из двух аминокислотных остатков или более 26 аминокислот.

В классическом полноразмерном иммуноглобулине каждая легкая (L) цепь связана с тяжелой (H) одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H-цепи связаны друг с другом одной или несколькими дисульфидными связями в зависимости от изоформа H-цепи. Домен CH, расположенный наиболее близко к VH, обычно обозначается как CH1. Константные домены ("C") не принимают непосредственного участия в связывании с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как, антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность и активация системы комплемента. Fc-участок антитела находится в пределах константных доменов тяжелой цепи и, например, способен взаимодействовать с расположенными на клеточной поверхности Fc-рецепторами.

Последовательности генов антител после сборки и соматической мутации являются весьма изменчивыми, и эти изменчивые гены по оценкам кодируют 10 различных молекул антител (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995). Соответственно, в иммунной системе образуется репертуар иммуноглобулинов. Термин "репертуар" относится к по меньшей мере одной нуклеотидной последовательности, полностью или частично полученной из по меньшей мере одной последовательности, кодирующей по меньшей мере один иммуноглобулин.

Последовательность(последовательности) можно получить путем *in vivo* перегруппировки V-, D- и J-сегментов генов тяжелых цепей и V- и J-сегментов генов легких цепей. Альтернативно, последовательность(последовательности) можно получать из клетки посредством, например, стимуляции *in vitro*, в ответ на которую происходит перегруппировка. Альтернативно, часть или всю(все) последовательность(последовательности) можно получать посредством сплайсинга ДНК, синтеза нуклеотидов, мутагенеза и других способов, см., например, патент США 5565332. Репертуар может включать только одну последовательность или может включать совокупность последовательностей, включая находящиеся в генетически разнородной коллекции.

В связи с настоящим изобретением термин "Fc-часть" или "Fc-мономер" означает полипептид, содержащий по меньшей мере один домен, имеющий функцию домена CH2, и по меньшей мере один домен, имеющий функцию домена CH3 молекулы иммуноглобулина. Из термина "Fc-мономер" видно, что полипептид, содержащий эти домены CH, представляет собой "полипептидный мономер". Fc-мономер может представлять собой полипептид, содержащий по меньшей мере фрагмент константного участка иммуноглобулина за исключением первого домена константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина (CH1), но сохраняющий по меньшей мере функциональную часть одного домена CH2 и функциональную часть одного домена CH3, причем домен CH2 является аминоконцевым по отношению к домену CH3. В предпочтительном аспекте этого определения Fc-мономер может представлять собой полипептидный константный участок, содержащий часть шарнирного участка Ig-Fc, участок CH2 и участок CH3, причем шарнирный участок является аминоконцевым по отношению к домену CH2. Подразумевается, что шарнирный участок согласно настоящему изобретению стимулирует димеризацию. Такие молекулы Fc-полипептидов можно получать, например без ограничения, путем расщепления папаином участка иммуноглобулина (конечно, приводящего к получению димера из двух Fc-полипептидов). В другом аспекте этого определения Fc-мономер может представлять собой полипептидный участок, содержащий часть участка CH2 и участка CH3. Такие молекулы Fc-полипептидов можно получать, например без ограничения путем расщепления пепсином молекулы иммуноглобулина. В одном варианте осуществления полипептидная последовательность Fc-мономера является практически аналогичной последовательности Fc-полипептида: Fc-участка IgG₁, Fc-участка IgG₂, Fc-участка IgG₃, Fc-участка IgG₄, Fc-участка IgM, Fc-участка IgA, Fc-участка IgD и Fc-участка IgE. (См., например, Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993)). Ввиду существования некоторой изменчивости между иммуноглобулинами и исключительно для ясности Fc-мономер означает последние два домена константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина IgA, IgD и IgG и последние три домена константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина IgE и IgM. Как упоминалось, Fc-мономер также может содержать гибкий шарнирный участок, расположенный с N-конца по отношению к этим доменам. В случае IgA и IgM Fc-мономер может включать J-цепь. В случае IgG Fc-часть содержит домены CH2 и CH3 иммуноглобулина и шарнирный участок между первыми двумя доменами и CH2. Хотя границы Fc-части могут варьироваться, например, в случае Fc-части тяжелой цепи IgG человека, содержащей функциональный шарнирный участок, домены CH2 и CH3 могут быть заданы, например, так, чтобы они содержали остатки от D231 (шарнирного домена - в соответствии с D234 в табл. 1 ниже) до R476, соответственно L476 (для IgG₄) карбоксиконца домена CH3, где нумерация используется согласно Kabat. Две Fc-части или два Fc-мономера, слитые друг с другом посредством пептидного линкера, определяют третий домен конструкции на основе антитела соглас-

но настоящему изобретению, который также может быть определен как домен scFc.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения подразумевается, что описанный в данном документе домен scFc, соответственно Fc-мономер, слитые друг с другом, находятся только в третьем домене конструкции на основе антитела.

В соответствии с настоящим изобретением шарнирный участок IgG можно определить по аналогии, используя нумерацию по Kabat, как показано в табл. 1. В соответствии с вышеизложенным предполагается, что для шарнирного домена/участка по настоящему изобретению минимальное требование содержит аминокислотные остатки, соответствующие участку последовательности IgG1 от D231, D234 до P243 согласно нумерации по Kabat. Аналогично подразумевается, что шарнирный домен/шарнирный участок согласно настоящему изобретению содержит или состоит из последовательности шарнирного участка IgG1 DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (соответствует участку от D234 до P243, как показано в табл. 1 ниже - варианты указанной последовательности также предусмотрены при том условии, что шарнирный участок по-прежнему способствует димеризации). В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения участок гликозилирования в положении 314 по Kabat доменов CH2 в третьем домене конструкции на основе антитела удален путем замены N314X, где X представляет собой любую аминокислоту, исключаящую Q. Указанная замена является предпочтительно заменой N314G. В более предпочтительном варианте осуществления указанный домен CH2 дополнительно содержит следующие замены (положения в соответствии с Kabat): V321C и R309C (эти замены вводят внутримономерный цистеиновый дисульфидный мостик в положениях 309 и 321 по Kabat).

Также подразумевается, что третий домен конструкции на основе антитела по настоящему изобретению содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (т.е. шарнирный участок) -CH2-CH3-линкер-DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (т.е. шарнирный участок) -CH2-CH3. Пептидный линкер из вышеупомянутой конструкции на основе антитела в предпочтительном варианте осуществления характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число от 5 или больше (например, 5, 6, 7, 8 и т.д. или больше), при этом предпочтительным является 6 ((Gly₄Ser)₆). Указанная конструкция может дополнительно содержать вышеуказанные заместители: N314X, предпочтительно N314G и/или дополнительные заместители V321C и R309C. В предпочтительном варианте осуществления конструкций на основе антител по настоящему изобретению, как определено в данном документе ранее, предусматривается, что второй домен связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или Масаса.

Таблица 1

Нумерация аминокислотных остатков шарнирного участка по Kabat

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

В дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения шарнирный домен/участок содержит или состоит из последовательности шарнирного участка подтипа IgG2 ERKCCVECPCPCP (SEQ ID NO: 478), последовательности шарнирного участка подтипа IgG3 ELKTPLDTHTCPCPCP (SEQ ID NO: 479) или ELKTPLDGTHTCPCPCP (SEQ ID NO: 486), и/или последовательности шарнирного участка подтипа IgG4, ESKYGPPCPCPCP (SEQ ID NO: 480). Последовательность шарнирного участка подтипа IgG1 может быть следующей: EPKSCDKTHTCPCPCP (как показано в табл. 1 и SEQ ID NO: 487). Таким образом, эти основные шарнирные участки также подразумеваются в контексте настоящего изобретения.

Положение и последовательность домена CH2 IgG и домена CD3 IgG можно определить по анало-

гии, используя нумерацию по Kabat, как показано в табл. 2.

Таблица 2

Нумерация аминокислотных остатков участка CH2 и CH3 IgG по Kabat

Подтип IgG	Перевод в aa CH2	Нумерация CH2 по Kabat	Перевод в aa CH3	Нумерация CH3 по Kabat
IgG₁	ARE...KAK	244...360	GQP...PGK	361...478
IgG₂	APP...KTK	244...360	GQP...PGK	361...478
IgG₃	ARE...KTK	244...360	GQP...PGK	361...478
IgG₄	ARE...KAK	244...360	GQP...LGK	361...478

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

Пептидный линкер, посредством которого полипептидные мономеры ("Fc-часть" или "Fc-мономер") третьего домена слиты друг с другом, предпочтительно содержит по меньшей мере 25 аминокислотных остатков (25, 26, 27, 28, 29, 30 и т.д.). Более предпочтительно этот пептидный линкер содержит по меньшей мере 30 аминокислотных остатков (30, 31, 32, 33, 34, 35 и т.д.). Также предпочтительно, чтобы линкер содержал до 40 аминокислотных остатков, более предпочтительно до 35 аминокислотных остатков, наиболее предпочтительно именно 30 аминокислотных остатков. Предпочтительным вариантом осуществления такого пептидного линкера является вариант, характеризующийся аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число 5 или больше (например, 6, 7 или 8). Предпочтительно целое число равняется 6 или 7, более предпочтительно целое число равняется 6.

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

Особенно предпочтительной "единственной" аминокислотой в контексте одного вышеописанного "пептидного линкера" является Gly. Соответственно, указанный пептидный линкер может состоять из одной аминокислоты Gly. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения пептидный линкер характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число 1 или больше (например, 2 или 3). Предпочтительные линкеры приведены в SEQ ID NO: 1-12.

Характеристики указанного пептидного линкера, которые включают отсутствие стимуляции образования вторичных структур, известны из уровня техники и описаны, например, в Dall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) и Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Предпочтительными являются пептидные линкеры, которые, помимо прочего, не стимулируют образование каких-либо вторичных структур. Связь указанных доменов друг с другом может быть обеспечена, например, с помощью генной инженерии, как описано в примерах. Способы получения слитых и функционально связанных биспецифических одноцепочечных конструкций и их экспрессии в клетках млекопитающих или бактериях хорошо известны из уровня техники (например, WO 99/54440 или Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

В предпочтительном варианте осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению первый и второй домены образуют конструкцию на основе антитела в формате, выбранном из группы, состоящей из (scFv)₂, scFv-однодоменного mAb, диатела и олигомеров любого из этих форматов.

Согласно особенно предпочтительному варианту осуществления и как задокументировано в прилагаемых примерах, первый и второй домены конструкции на основе антитела по настоящему изобретению представляют собой "конструкцию на основе биспецифического одноцепочечного антитела", более предпочтительно биспецифический "одноцепочечный Fv" (scFv). Хотя два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются отдельными генами, их можно соединить с применением рекомбинантных способов с помощью синтетического линкера, описанного в данном документе выше, позволяющего им образовывать единую белковую цепь, в которой участки VL и VH спариваются с образованием моновалентной

молекулы; см. например, Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). Эти фрагменты антител получают, используя традиционные методики, известные специалистам в данной области техники, и оценивают фрагменты в отношении функции таким же образом, как и полноразмерные антитела. Следовательно, одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv) представляет собой слитый белок варибельного участка тяжелой цепи (VH) и легкой цепи (VL) иммуноглобулинов, обычно соединенных коротким линкерным пептидом длиной от приблизительно десяти до приблизительно 25 аминокислот, предпочтительно от приблизительно 15 до 20 аминокислот. Линкер обычно богат глицином для обеспечения гибкости, а также серином или треонином для обеспечения растворимости и может либо соединять N-конец VH с C-концом VL, либо наоборот. Этот белок сохраняет специфичность оригинального иммуноглобулина, несмотря на удаление константных участков и введение линкера.

Конструкции на основе биспецифических одноцепочечных антител являются известными из уровня техники и описаны в WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Методики, описанные для получения одноцепочечных антител (см., помимо прочего, патент США 4946778, Kontermann and Dübel (2010), loc. cit. and Little (2009), loc. cit.) можно приспособить для получения конструкций на основе одноцепочечных антител специфически распознающих выбранную (выбранные) мишень(мишени).

Бивалентные (также называемые двухвалентные) или биспецифические одноцепочечные варибельные фрагменты (bi-scFv или di-scFv в формате (scFv)₂) могут быть сконструированы путем соединения двух молекул scFv (например, с линкерами, описанными в данном документе выше). Если эти две молекулы scFv характеризуются одинаковой специфичностью связывания, то получаемая в результате молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться бивалентной (т.е. она имеет две антигенные детерминанты для одного и того же целевого эпитопа). Если две молекулы scFv характеризуются различной специфичностью связывания, то получаемая в результате молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться биспецифической. Связывание может быть осуществлено путем получения одной пептидной цепи с двумя участками VH и двумя участками VL, в результате чего образуются tandemные scFv (см., например, Kufer P. et al., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244). Другой возможностью является создание молекул scFv с линкерными пептидами, которые слишком коротки для того, чтобы два варибельных участка складывались вместе (например, приблизительно пять аминокислот), вынуждая scFv димеризоваться. Такой тип известен под названием диатела (см., например, Hollinger, Philipp et al., (July 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90 (14): 6444-8).

В соответствии с настоящим изобретением любой из первого, второго или первый и второй домены могут составлять однодоменное антитело, соответственно варибельный домен или по меньшей мере часть CDR однодоменного антитела. Однодоменные антитела содержат только один (мономерный) варибельный домен антитела, который способен избирательно связываться с конкретным антигеном, независимо от других V-участков или доменов. Первые однодоменные антитела были сконструированы из тяжелой цепи антител, выявленных у верблюдов, и они называются фрагментами VH_H. Хрящевые рыбы также имеют антитела с тяжелой цепью (IgNAR), из которых могут быть получены однодоменные антитела, называемые фрагментами VNAR. Альтернативный подход заключается в разделении димерных варибельных доменов обычных иммуноглобулинов, например, человека или грызунов, на мономеры с получением таким образом VH или VL в качестве однодоменного Ab. Хотя большинство исследований однодоменных антител в настоящее время основано на варибельных доменах тяжелой цепи, также было показано, что нанотела, полученные из легких цепей, специфически связываются с эпитопами-мишенями. Примеры однодоменных антител называются sdAb, нанотелами или антителами, содержащими один варибельный домен.

Следовательно, (однодоменное mAb)₂ представляет собой конструкцию на основе моноклонального антитела, состоящую из (по меньшей мере) двух однодоменных моноклональных антител, которые по отдельности выбраны из группы, состоящей из VH, VL, VH_H и VNAR. Линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера. Аналогично "scAv-однодоменное mAb" представляет собой конструкцию на основе моноклонального антитела, состоящую из по меньшей мере одного однодоменного антитела, описанного выше, и одной молекулы scFv, описанной выше. Опять же линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера.

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

T-клетки или T-лимфоциты являются типом лимфоцитов (которые сами по себе являются типом

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

Комплекс CD3-рецептора представляет собой белковый комплекс и состоит из четырех цепей. У млекопитающих комплекс содержит CD3 γ (гамма)-цепь, CD3 δ (дельта)-цепь и две CD3 ϵ (эпсилон)-цепи. Эти цепи связываются с Т-клеточным рецептором (ТРК) и так называемой ζ (дзета)-цепью с образованием комплекса Т-клеточного рецептора и CD3 и генерацией сигнала активации в Т-лимфоцитах. Цепи CD3 γ (гамма), CD3 δ (дельта) и CD3 ϵ (эпсилон) являются высокородственными белками клеточной поверхности суперсемейства иммуноглобулинов, содержащие один внеклеточный домен иммуноглобулина. Внутриклеточные хвосты молекул CD3 содержат один консервативный мотив, известный как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив или сокращенно ИТАМ, который является ключевым для функции сигнального пути ТРК. Молекула CD3-эпсилон представляет собой полипептид, который у человека кодируется геном CD3E, который расположен на хромосоме 11. Наиболее предпочтительный эпитоп CD3-эпсилон находится в пределах аминокислотных остатков 1-27 внеклеточного домена человеческого CD3-эпсилон. Подразумевается, что конструкции на основе антител в соответствии с настоящим изобретением, как правило и преимущественно, меньше демонстрируют неспецифическую активацию Т-клеток, которая является нежелательной в специфической иммунотерапии. Это приводит к снижению риска возникновения побочных явлений.

Перенаправленный лизис клеток-мишеней посредством привлечения Т-клеток конструкцией на основе мультиспецифического, по меньшей мере биспецифического антитела, включает образование цитолитического синапса и доставку перфорина и гранзимов. Рекрутированные Т-клетки способны последовательно осуществлять лизис клеток-мишеней и на них не влияют механизмы уклонения от иммунологического надзора, препятствующие процессингу и презентации пептидных антигенов или клональной дифференцировке Т-клеток; см., например, WO 2007/042261.

Цитотоксичность, опосредованную конструкциями на основе антител по настоящему изобретению, можно определять различными путями. Эффекторные клетки могут представлять собой, например, обогащенные (человеческие) CD8-положительные Т-клетки или нестимулированные (человеческие) мононуклеарные клетки периферической крови (ПВМС). Если клетки-мишени получены от макака либо экспрессируют, либо трансфицированы MUC17 макака, который связан первым доменом, эффекторные клетки также должны быть получены от макака, как например, в случае линии Т-клеток макака, например, 4119LpRx. Клетки-мишени должны экспрессировать (по меньшей мере внеклеточный домен) MUC17, например, MUC17 человека или макака. Клетки-мишени могут представлять собой линию клеток (таких как клетки CHO), стабильно или временно трансфицированных MUC17, например, MUC17 человека или макака. Обычно ожидается, что значения EC₅₀ будут более низкими для целевых линий клеток, экспрессирующих MUC17 на клеточной поверхности на более высоких уровнях. Соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней (Е:Т) обычно составляет приблизительно 10:1, но также может варьироваться. Цитотоксическую активность конструкций на основе биспецифических антител к MUC17 можно измерить в анализе высвобождения ⁵¹Cr (время инкубирования приблизительно 18 ч) или в анализе цитотоксичности на основе FACS (время инкубирования приблизительно 48 ч). Также возможны модификации времени инкубации (цитотоксической реакции) в анализе. Другие способы определения цитотоксичности хорошо известны специалисту в данной области техники и включают МТТ- или МТS-анализ, анализы на основе АТФ, включая билюминесцентный анализ, анализ с сульфородамино В (SRB), анализ WST, клоногенный анализ и методику ECIS.

Цитотоксическую активность, опосредованную конструкциями на основе биспецифических антител к MUC17хCD3 по настоящему изобретению, предпочтительно измеряют в клеточном анализе цитотоксичности. Ее также можно измерять в анализе высвобождения ⁵¹Cr. Она представлена значением EC₅₀, которое соответствует полумаксимальной эффективной концентрации (концентрации конструкции на основе антитела, индуцирующей половинный цитотоксический ответ между минимумом и максимумом). Предпочтительно значение EC₅₀ для конструкций на основе биспецифических антител к MUC17хCD3 составляет ≤ 5000 пМ или ≤ 4000 пМ, более предпочтительно ≤ 3000 пМ или ≤ 2000 пМ, еще более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, еще более предпочтительно ≤ 400 пМ или ≤ 300 пМ, еще более предпочтительно ≤ 200 пМ, еще более предпочтительно ≤ 100 пМ, еще более предпочтительно ≤ 50 пМ, еще более предпочтительно ≤ 20 пМ или ≤ 10 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 5 пМ.

Указанные выше значения EC₅₀ могут быть получены в различных анализах. Специалисту в данной

области техники известно, что можно ожидать, что значение EC_{50} будет ниже, когда стимулированные/обогащенные $CD8^+$ Т-клетки используются в качестве эффекторных клеток по сравнению с нестимулированными РВМС. Кроме того, можно ожидать, что значения EC_{50} будут ниже, когда клетки-мишени экспрессируют большое количество MUC17 по сравнению с низкой целевой экспрессией у крыс. Например, когда в качестве эффекторных клеток используются стимулированные/обогащенные $CD8^+$ Т-клетки человека (и либо клетки, трансфицированные MUC17, такие как клетки CHO, или линии клеток человека, положительные по MUC17, используются в качестве клеток-мишеней), значение EC_{50} для конструкции на основе биспецифического антитела к MUC17xCD3 предпочтительно составляет ≤ 1000 пМ, более предпочтительно ≤ 500 пМ, еще более предпочтительно ≤ 250 пМ, еще более предпочтительно ≤ 100 пМ, еще более предпочтительно ≤ 50 пМ, еще более предпочтительно ≤ 10 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 5 пМ. Когда в качестве эффекторных клеток используются РВМС человека, значение EC_{50} для конструкции на основе биспецифического антитела к MUC17xCD3 предпочтительно составляет ≤ 5000 пМ или ≤ 4000 пМ (в частности, когда клетками-мишенями являются линии клеток человека, положительные по MUC17), более предпочтительно ≤ 2000 пМ (в частности, когда клетками-мишенями являются клетки, трансфицированные MUC17, такие как клетки CHO), более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, еще более предпочтительно ≤ 200 пМ, еще более предпочтительно ≤ 150 пМ, еще более предпочтительно ≤ 100 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 50 пМ или ниже. Если в качестве эффекторных клеток используется линия Т-клеток макака, такая как LnPx4119, а в качестве целевой линии клеток используются клетки, трансфицированные MUC17 макака, такие как клетки CHO, то значение EC_{50} для конструкции на основе биспецифического антитела к MUC17xCD3 предпочтительно составляет ≤ 2000 пМ или ≤ 1500 пМ, более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, еще более предпочтительно ≤ 300 пМ или ≤ 250 пМ, еще более предпочтительно ≤ 100 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 50 пМ.

Предпочтительно конструкции на основе биспецифических антител к MUC17xCD3 по настоящему изобретению не индуцируют/не опосредуют лизис или по сути не индуцируют/не опосредуют лизис клеток, отрицательных по MUC17, таких как клетки CHO. Термин "не индуцирует лизис", "по сути не индуцирует лизис", "не опосредуют лизис" или "по сути не опосредуют лизис" означает, что конструкция на основе антитела по настоящему изобретению индуцирует или опосредует лизис не более 30%, предпочтительно не более 20%, более предпочтительно не более 10%, особенно предпочтительно не более 9, 8, 7, 6 или 5% клеток, отрицательных по MUC17, где лизис линии клеток человека, положительной по MUC17, принят за 100%. Это обычно соответствует концентрациям конструкции на основе антитела, составляющим не более 500 нМ. Специалисту в данной области техники известно, как определить лизис клеток без излишних усилий. Кроме того, в настоящем описании приведены конкретные инструкции для определения лизиса клеток.

Различие в цитотоксической активности между мономерной и димерной изоформами отдельных конструкций на основе биспецифических антител к MUC17xCD3 называют "расхождением в эффективности". Это расхождение в эффективности можно, например, рассчитать как соотношение значений EC_{50} для мономерных и димерных форм молекул. Расхождение в эффективности конструкций на основе биспецифических антител к MUC17xCD3 по настоящему изобретению составляет предпочтительно ≤ 5 , более предпочтительно ≤ 4 , еще более предпочтительно ≤ 3 , еще более предпочтительно ≤ 2 и наиболее предпочтительно ≤ 1 .

Первый и/или второй (или любой дополнительный) связывающий домен(домены) конструкции на основе антитела по настоящему изобретению предпочтительно отличаются межвидовой специфичностью для представителей приматов класса млекопитающих. Отличающиеся межвидовой специфичностью CD3-связывающие домены описаны, например, в WO 2008/119567. Согласно одному варианту осуществления первый и/или второй связывающий домен в дополнение к связыванию с MUC17 человека и CD3 человека соответственно будут также связываться с MUC17/CD3, включая (без ограничения) приматов нового света (таких как *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*), приматов старого света (таких как бабуины и макаки), гиббонов и представителей *homininae*, отличных от человека.

В одном варианте осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, первый домен связывается с MUC17 человека и дополнительно связывается с MUC17 макака, таким как MUC17 *Macaaca fascicularis*, и более предпочтительно MUC17 макака, экспрессируемым на поверхности клеток, например, таких как клетки CHO или 293. Аффинность первого домена в отношении MUC17, предпочтительно в отношении MUC17 человека, предпочтительно составляет ≤ 100 нМ или ≤ 50 нМ, более предпочтительно ≤ 25 нМ или ≤ 20 нМ, более предпочтительно ≤ 15 нМ или ≤ 10 нМ, еще более предпочтительно ≤ 5 нМ, еще более предпочтительно $\leq 2,5$ нМ или ≤ 2 нМ, еще более предпочтительно ≤ 1 нМ, еще более предпочтительно $\leq 0,6$ нМ, еще более предпочтительно $\leq 0,5$ нМ и наиболее предпочтительно $\leq 0,4$ нМ. Аффинность можно определить, например, в анализе ВІАcore или в анализе Скэтчарда. Специалисту в данной области техники также хорошо известны другие способы определения аффинности. Аффинность первого домена с MUC17 составляет предпочтительно ≤ 15 нМ, более предпочтительно ≤ 10 нМ, еще более предпочтительно ≤ 5 нМ, еще более предпочтительно ≤ 1 нМ, еще более предпочтительно

$\leq 0,5$ нМ, еще более предпочтительно $\leq 0,1$ нМ, и наиболее предпочтительно $\leq 0,05$ нМ или даже $\leq 0,01$ нМ.

Предпочтительно расхождение в аффинности конструкций на основе антител согласно настоящему изобретению для связывания с MUC17 макака в сравнении с MUC17 человека [та MUC17:hu MUC17] (как определено, например, с помощью анализа ViaCore или Скэтчарда) составляет <100 , предпочтительно <20 , более предпочтительно <15 , еще предпочтительно <10 , еще более предпочтительно <8 , более предпочтительно <6 и наиболее предпочтительно <2 . Предпочтительные диапазоны для расхождения в аффинности конструкций на основе антител согласно настоящему изобретению для связывания с MUC17 макака по сравнению с MUC17 человека составляют от 0,1 до 20, более предпочтительно от 0,2 до 10, еще более предпочтительно от 0,3 до 6, еще более предпочтительно от 0,5 до 3 или от 0,5 до 2,5 и наиболее предпочтительно от 0,5 до 2 или от 0,6 до 2.

Второй домен конструкции на основе антитела по настоящему изобретению связывается с CD3-эпсилон человека и/или с CD3-эпсилон Масаса. В предпочтительном варианте осуществления второй домен дополнительно связывается с CD3-эпсилон *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*. Оба *Callithrix jacchus* и *Saguinus oedipus* представляют собой приматов нового света, относящихся к семейству Callitrichidae, тогда как *Saimiri sciureus* представляет собой примата нового света, относящегося к семейству Cebidae.

Для конструкции на антитела по настоящему изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с внеклеточный эпитопом цепи CD3-эпсилон человека и/или Масаса, содержал участок VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

- (a) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 27 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 28 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 29 в WO 2008/119567;
- (b) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 117 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 118 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 119 в WO 2008/119567; и
- (c) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 153 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 154 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 155 в WO 2008/119567.

В еще более предпочтительном варианте осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3-эпсилон человека и/или цепи Масаса содержит участок VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

- (a) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 12 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 13 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 14 в WO 2008/119567;
- (b) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 30 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 31 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 32 в WO 2008/119567;
- (c) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 48 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 49 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 50 в WO 2008/119567;
- (d) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 66 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 67 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 68 в WO 2008/119567;
- (e) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 84 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 85 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 86 в WO 2008/119567;
- (f) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 102 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 103 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 104 в WO 2008/119567;
- (g) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 120 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 121 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 122 в WO 2008/119567;
- (h) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 138 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 139 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 140 в WO 2008/119567;
- (i) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 156 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 157 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 158 в WO 2008/119567; и
- (j) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 174 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 175 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 176 в WO 2008/119567.

В предпочтительном варианте осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению вышеописанные три группы VL CDR комбинируют с вышеописанными десятью группами VH CDR в пределах второго связывающего домена для получения (30) групп, каждая из которых содержит CDR-L 1-3 и CDR-H 1-3.

Для конструкции на основе антитела по настоящему изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал участок VL, выбранный из группы, состоящей из тех, которые приведены под SEQ ID NO: 17, 21, 35, 39, 53, 57, 71, 75, 89, 93, 107, 111, 125, 129, 143, 147, 161, 165, 179 или 183 WO 2008/119567 или приведены под SEQ ID NO: 13 в соответствии с настоящим изобретением.

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

Более предпочтительно конструкция на основе антитела по настоящему изобретению характеризуется вторым доменом, который связывается с CD3, содержащим участок VL и участок VH, выбранные из группы, состоящей из:

- (a) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 17 или 21 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 15 или 19 в WO 2008/119567;
- (b) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 35 или 39 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 33 или 37 в WO 2008/119567;
- (c) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 53 или 57 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 51 или 55 в WO 2008/119567;
- (d) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 71 или 75 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 69 или 73 в WO 2008/119567;
- (e) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 89 или 93 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 87 или 91 в WO 2008/119567;
- (f) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 107 или 111 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 105 или 109 в WO 2008/119567;
- (g) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 125 или 129 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 123 или 127 в WO 2008/119567;
- (h) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 143 или 147 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 141 или 145 в WO 2008/119567;
- (i) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 161 или 165 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 159 или 163 в WO 2008/119567; и
- (j) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 179 или 183 в WO 2008/119567, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 177 или 181 в WO 2008/119567.

Также в связи с конструкцией на основе антитела по настоящему изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал участок VL, приведенный под SEQ ID NO: 13, и участок VH, приведенный под SEQ ID NO: 14.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению первый и/или второй домен имеют следующий формат: пары участков VH и участков VL имеют формат одноцепочечного антитела (scFv). Участки VH и VL расположены в порядке VH-VL или VL-VH. Предпочтительно, чтобы участок VH был расположен с N-конца по отношению к линкерной последовательности, а участок VL был расположен с C-конца по отношению к линкерной последовательности.

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

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

- (a) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 36, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 37, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 38, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 33, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 34, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 35;
- (b) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 47, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 48, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 49, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 44, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 45, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 46;
- (c) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 58, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 59, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 60, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 55, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 56, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 57;
- (d) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 69, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 70, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 71, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 66, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 67, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 68;
- (e) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 80, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 81, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 82, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 77, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 78, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 79;
- (f) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 91, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 92, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 93, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 88, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 89, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 90;
- (g) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 102, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 103, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 104, и CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 99, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 100, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 101;
- (h) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 113, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 114, и

CDR-L3, приведенный под SEQ ID NO: 423, и CDR-H1, приведенный под SEQ ID NO: 418, CDR-H2, приведенный под SEQ ID NO: 419, и CDR-H3, приведенный под SEQ ID NO: 420.

Дополнительно подразумевается, что первый связывающий домен конструкции антитела по настоящему изобретению содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из:

- (a) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 40, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 39;
- (b) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 51, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 50;
- (c) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 62, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 61;
- (d) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 73, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 72;
- (e) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 84, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 83;
- (f) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 95, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 94;
- (g) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 106, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 105;
- (h) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 117, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 116;
- (i) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 128, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 127;
- (j) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 139, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 138;
- (k) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 150, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 149;
- (l) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 161, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 160;
- (m) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 172, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 171;
- (n) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 183, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 182;
- (o) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 194, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 193;
- (p) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 205, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 204;
- (q) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 216, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 215;
- (r) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 227, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 226;
- (s) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 238, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 237;
- (t) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 249, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 248;
- (u) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 260, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 259;
- (v) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 271, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 270;
- (w) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 282, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 281;
- (x) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 293, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 292;
- (y) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 304, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 303;
- (z) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 315, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 314;
- (aa) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 326, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 325;
- (ab) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 337, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 336;
- (ac) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 348, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 347;
- (ad) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 359, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 358;
- (ae) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 370, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 369;
- (af) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 381, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 380;

(ag) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 392, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 391;
 (ah) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 403, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 402;
 (ai) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 414, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 413;
 (aj) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 425, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 424;
 (ak) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 436, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 435;
 (al) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 447, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 446;
 (am) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 458, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 457;
 (an) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 469, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 468;
 (ao) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 480, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 479;
 (ap) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 491, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 490;
 (aq) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 502, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 501;
 (ar) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 513, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 512; и
 (as) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 524, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 523.

Кроме того предусматривается, что первый связывающий домен конструкции на основе антитела по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из приведенных под SEQ ID NO: 41, 52, 63, 74, 85, 96, 107, 118, 129, 140, 151, 162, 173, 184, 195, 206, 217, 228, 239, 250, 261, 272, 283, 294, 305, 316, 327, 338, 349, 360, 371, 382, 393, 404, 415, 426, 437, 448, 459, 470, 481, 492, 503, 514, и 525 или имеющей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью с указанными последовательностями.

В настоящем изобретении дополнительно предусматривается конструкция на основе антитела, содержащая или имеющая аминокислотную последовательность (полные конструкции на основе биспецифических антител), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 42, 43, 53, 54, 64, 65, 75, 76, 86, 87, 97, 98, 108, 109, 119, 120, 130, 131, 141, 142, 152, 153, 163, 164, 174, 175, 185, 186, 196, 197, 207, 208, 218, 219, 229, 230, 240, 241, 251, 252, 262, 263, 273, 274, 284, 285, 295, 296, 306, 307, 317, 318, 328, 329, 339, 340, 350, 351, 361, 362, 372, 373, 383, 384, 394, 395, 405, 406, 416, 417, 427, 428, 438, 439, 449, 450, 460, 461, 471, 472, 482, 483, 493, 494, 504, 505, 515, 516, 526 и 527, или имеющей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью с указанными последовательностями.

Ковалентные модификации конструкций на основе антител также включены в объем настоящего изобретения и в целом, но не в каждом случае, осуществляются посттрансляционно. Например, несколько типов ковалентных модификаций конструкции на основе антитела вводят в молекулу за счет проведения реакции между конкретными аминокислотными остатками конструкции на основе антитела с органическим дериватирующим средством, которое способно вступать в реакцию с выбранным боковыми цепями N- или C-концевых остатков.

Цистеинильные остатки чаще всего взаимодействуют с α -галогенацетатами (и соответствующими аминами), такими как хлоруксусная кислота или хлорацетамид, с образованием карбоксиметильных или карбоксиамидометильных производных. Цистеинильные остатки также дериватируются за счет реакции с бромтрифторацетоном, α -бром- β -(5-имидозил)пропионой кислотой, хлорацетилфосфатом, N-алкилмалеимидами, 3-нитро-2-пиридилдисульфидом, метил-2-пиридилдисульфидом, п-хлорртутьбензоатом, 2-хлорртуть-4-нитрофенолом или хлор-7-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом.

Гистидильные остатки дериватируются за счет реакции с диэтилпирокарбонатом при pH 5,5-7,0, поскольку это средство является относительно специфическим для гистидильной боковой цепи. Также используют пара-бромфенацилбромид; реакцию предпочтительно проводят в 0,1M какодилате натрия при pH 6,0. Лизинильные и аминоконцевые остатки подвергают реакции с ангидридами янтарной или других карбоновых кислот. Дериватизация этими средствами имеет эффект изменения заряда лизинильных остатков на противоположный. Другие подходящие реагенты для дериватизации остатков, содержащих альфа-аминогруппу, включают сложные имидоэфир, такие как метилпиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль, хлорборгидрид; тринитробензолсульфоновую кислоту; O-метилизомочевину;

2,4-пентандион и глиоксилат в реакции, катализируемой трансаминазой.

Аргинильные остатки могут быть модифицированы за счет реакции с одним или несколькими стандартными реагентами, среди которых фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Дериватизация остатков аргинина требует проведения реакции в щелочных условиях из-за высокого рКа функциональной группы гуанидина. Кроме того, эти реагенты могут вступать в реакцию с группами лизина, а также эpsilon-аминогруппой аргинина.

Можно проводить специфическую модификацию тирозильных остатков, при этом особый интерес представляет введение спектральных меток в тирозильные остатки посредством реакции с ароматическими соединениями диазония или с тетранитрометаном. Для образования О-ацетилтирозильных соединений и 3-нитропроизводных чаще всего применяют N-ацетилимидзол и тетранитрометан соответственно. Тирозильные остатки иодируют с использованием ^{125}I или ^{131}I с целью получения меченых белков для использования в радиоиммуноанализе, при этом описанный выше способ с хлорамином T является подходящим.

Карбоксильные боковые группы (аспартил или глутамил) селективно модифицируют с помощью реакции с карбодиимидами ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N--R}'$), где R и R' необязательно представляют собой различные алкильные группы, такие как 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-4-этил)карбодиимид или 1-этил-3-(4-азониа-4,4-диметилфенил)карбодиимид. Кроме того, аспартильные и глутамильные остатки превращают в аспарагинильные и глутаминильные остатки за счет реакции с ионами аммония.

Дериватизацию бифункциональными средствами используют для перекрестного сшивания конструкций на основе антител по настоящему изобретению с водонерастворимой иммобилизирующей матрицей или поверхностью для применения в различных способах. Обычно используемые сшивающие средства включают, например, сложные эфиры 1,1-бис(диазоацетил)-2-фенилэтана, глутаральдегида, N-гидроксисукцинимиды, например, сложные эфиры 4-азидосалициловой кислоты, гомобифункциональные сложные имидоэфиры, включая сложные дисукцинимидильные эфиры, такие как 3,3'-дитиобис(сукцинимидилпропионат) и бифункциональные малеимиды, такие как бис-N-малеимидо-1,8-октан. Дериватизирующие средства, такие как метил-3-[(п-азидофенил)дитио]пропиоимидат, в результате дают фотоактивируемые промежуточные соединения, которые способны образовывать поперечные связи в присутствии света. Альтернативно, для иммобилизации белков применяют реакционноспособные водонерастворимые матрицы, такие как активируемые цианогенбромидом углеводы, и реакционноспособные субстраты, описанные в патентах США № 3969287; 3691016; 4195128; 4247642; 4229537 и 4330440, применяются для иммобилизации белка.

Глутаминильные и аспарагинильные остатки часто дезамидируют до соответствующих глутамильных и аспартильных остатков. Альтернативно, эти остатки дезамидируются в умеренно кислых условиях. Любая форма этих остатков находится в пределах объема настоящего изобретения.

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

Другой тип ковалентной модификации конструкций на основе антител, включенный в объем настоящего изобретения, включает изменение профиля гликозилирования белка. Как известно из уровня техники, профили гликозилирования могут зависеть как от последовательности белка (например, от присутствия или отсутствия конкретных аминокислотных остатков гликозилирования, обсуждаемых ниже), так и от клетки-хозяина или организма, в которых продуцируется белок. Конкретные системы экспрессии обсуждаются ниже.

Гликозилирование полипептидов, как правило, является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанный относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серина и аспарагин-X-треонина, где X представляет собой любую аминокислоту за исключением пролина, представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикарбоксильной группе, наиболее часто серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

Добавление участков гликозилирования в конструкцию на основе антитела удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или несколько из вышеописанных трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Изменение также может быть осуществлено путем добавления или замены одним или несколькими сериновыми или треониновыми остатками в исходной последовательности (для O-связанных сайтов гликозилирования). Для удобства аминокислотную последовательность конструкции на основе антитела предпочтительно изменяют посредством изменений на уровне ДНК, в частности, осуществляя мутацию ДНК, кодирующую полипептид, в предварительно выбранных основаниях так, чтобы создать кодоны, которые

будут транслироваться в необходимые аминокислоты.

Другим средством повышения количества углеводных компонентов в конструкции на основе антигена является химическое или ферментативное сопряжение гликозидов с белком. Эти процедуры предпочтительны по той причине, что они не требуют продуцирования белка в клетке-хозяине, которая обладает способностями к гликозилированию для N- и O-связанного гликозилирования. В зависимости от используемого вида сопряжения сахар(сахара) может быть присоединен к (а) аргинину и гистидину, (b) свободным карбоксильным группам, (с) свободным сульфгидрильным группам, как например, к группам цистеина, (d) свободным гидроксильным группам, как например, к группам серина, треонина или гидроксипролина, (е) ароматическим остаткам, как например, к остаткам фенилаланина, тирозина или триптофана, или (f) амидной группе глутамина. Эти способы описаны в WO 87/05330 и в Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306.

Удаление углеводных компонентов, присутствующих в исходной конструкции на основе антигена, можно осуществлять химическим или ферментативным способом. Химическое дегликозилирование требует воздействия на белок соединением трифторметансульфоново́й кислоты или эквивалентным соединением. Такая обработка приводит в результате к расщеплению большинства или всех сахаров за исключением связывающего сахара (N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина), тогда как полипептид остается интактным. Химическое дегликозилирование описано в Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 и в Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131. Ферментативное расщепление углеводных фрагментов на полипептиды может быть достигнуто путем применения ряда эндо- и экзо-гликозидаз, как описано в Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350. Гликозилирование в потенциальных сайтах гликозилирования может быть предотвращено путем применения соединения туникамицина, как описано в Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. Туникамицин блокирует образование белок-N-гликозидных связей.

Другие модификации конструкции на основе антигена также предусмотрены в данном документе. Например, другой тип ковалентной модификации конструкции на основе антигена включает связывание конструкции на основе антигена с различными небелковыми полимерами, включая без ограничения различные полиолы, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, полиоксиполиэтиленгликоли или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, как это описано в патентах США № 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337. Кроме того, как известно из уровня техники, можно проводить аминокислотные замены в различных положениях в конструкции на основе антигена, например, чтобы облегчить добавление полимеров, таких как PEG.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ковалентная модификация конструкций на основе антигена по настоящему изобретению включает добавление одной или нескольких меток. Группа мечения может быть присоединенной к конструкции на основе антигена с помощью спейсерных групп различной длины для уменьшения возможного стерического несоответствия. Из уровня техники известны различные способы мечения белков, которые можно применять при осуществлении настоящего изобретения. Термин "метка" или "группа мечения" относится к любой детектируемой метке. В целом метки делятся на множество классов в зависимости от анализа, в котором предполагается их выявление; при этом следующие примеры включают без ограничения изотопные метки, которые могут быть радиоактивными или тяжелыми изотопами, как, например, радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I);

магнитные метки (например, магнитные частицы);

редокс-активные фрагменты;

оптические красители (включая без ограничения хромофоры, люминофоры и флуорофоры) такие как флуоресцентные группы (например, FITC, родамин, лантаноидные люминофоры), хемилюминесцентные группы и флуорофоры, которые могут быть либо "низкомолекулярными" флуоресцирующими средствами, либо белковыми флуоресцирующими средствами;

ферментативные группы (например, пероксидазу хрена, β -галактозидазу, люциферазу, щелочную фосфатазу);

биотинилированные группы;

заранее определенные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, связывающие участки для вторичных антиген, домены, связывающие металлы, метки эпитопов и т.п.).

Под "флуоресцентной меткой" понимают любую молекулу, которая может быть обнаружена с помощью присущих ей флуоресцентных свойств. Подходящие флуоресцентные метки включают без ограничения флуоресцеин, родамин, тетраметилродамин, эозин, эритрозин, кумарин, метилкумарины, пирен, малахитовый зеленый, стильбен, Lucifer Yellow, Cascade Blue J, Texas Red, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, Oregon green, красители Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), Cascade Blue, Cascade Yellow и R-фикоэритрин (PE) (Molecular Probes, Юджин, Орегон), FITC, родамин и Texas Red (Pierce, Рокфорд, Иллинойс), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Питтсбург, Пенсильвания). Подходящие оптические красители, включая флуорофоры, описаны в

Molecular Probes Handbook от Richard P. Haugland.

Подходящие белковые флуоресцентные метки также включают без ограничения зеленый флуоресцентный белок, включая GFP из видов *Renilla*, *Ptilosarcus* или *Aequorea* (Chalfie et al., 1994, Science 263:802-805), EGFP (Clontech Laboratories, Inc., номер доступа U55762 в GenBank), синий флуоресцентный белок (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Монреаль, Квебек, Канада НЗН 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24:462-471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6:178-182), усиленный желтый флуоресцентный белок (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), люциферазу (Ichiki et al., 1993, J. Immunol. 150:5408-5417), р-галактозидазу (Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 85:2603-2607) и *Renilla* (WO 92/15673, WO 95/07463, WO 98/14605, WO 98/26277, WO 99/49019, патенты США № 5292658; 5418155; 5683888; 5741668; 5777079; 5804387; 5874304; 5876995; 5925558).

Конструкция на основе антитела по настоящему изобретению также может содержать дополнительные домены, которые, например, способствуют выделению молекулы или связаны с адаптированным фармакокинетическим профилем молекулы. Домены, которые способствуют выделению конструкции на основе антитела, могут быть выбраны из пептидных мотивов или вторично введенных компонентов, которые могут быть захвачены в способе выделения, например, в колонке для выделение. Неограничивающие варианты осуществления таких дополнительных доменов включают пептидные мотивы, известные как Мус-метка, НАТ-метка, НА-метка, ТАР-метка, GST-метка, хитин-связывающий домен (CBD-метка), мальтоза-связывающий домен (MBP-метка), Flag-метка, Strep-метка и ее варианты (например, StrepII-метка) и His-метка. Все конструкции на основе антител, раскрытые в данном документе, могут содержать домен с His-меткой, который обычно известен как повтор последовательных остатков His в аминокислотной последовательности молекулы, предпочтительно из пяти и более, предпочтительно из шести остатков His (гекса-гистидин). His-метка может быть расположена, например, на N- или C-конце конструкции на основе антитела, предпочтительно она расположена на C-конце. Наиболее предпочтительно гекса-гистидиновая метка (НННННН) (SEQ ID NO: 16) связана посредством пептидной связи с C-концом конструкции на основе антитела в соответствии с настоящим изобретением. Кроме того, с полигистидиновой меткой можно комбинировать конъюгатную систему PLGA-PEG-PLGA для применений с замедленным высвобождением и для улучшения фармакокинетического профиля.

Также предполагаются модификации аминокислотных последовательностей описанных в данном документе конструкций на основе антител. Например, может требоваться улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств конструкции на основе антитела. Варианты аминокислотных последовательностей конструкций на основе антител получают путем введения соответствующих нуклеотидных замен в нуклеиновую кислоту конструкций на основе антител или путем синтеза пептида. Все из описанных ниже модификаций аминокислотной последовательности должны в результате давать такую конструкцию на основе антитела, которая по-прежнему сохраняет требуемую биологическую активность (связывание с MUC17 и с CD3) немодифицированной родительской молекулы.

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

Модификации аминокислот включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в пределах аминокислотных последовательностей конструкций на основе антител. С целью получения конечной конструкции осуществляют любую комбинацию из делеции, вставки и замены, при условии, что конечная конструкция обладает необходимыми характеристиками. Изменения в аминокислотах также могут изменять посттрансляционные процессы, которым подвергаются конструкции на основе антител, такие как изменение количества или положения участков гликозилирования.

Например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислот могут быть вставлены, заменены или удалены в каждом CDR (конечно же в зависимости от их длины), тогда как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот могут быть вставлены, заменены или удалены в каждом FR. Предпочтительно вставки аминокислотной последовательности в конструкцию на основе антитела включают слияния с амино- и/или карбоксильными концевыми группами по длине от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или нескольких аминокислотных остатков. Соответствующие модификации также можно проводить в пределах третьего домена конструкции на основе антитела согласно настоящему изобретению. Инсерционный вариант конструкции на основе антитела по настоящему изобретению включает слияние

фермента с N-концом или с C-концом конструкции на основе антитела или слияние с полипептидом.

Сайты, представляющие наибольший интерес для мутагенеза с заменой, включают (без ограничения) CDR тяжелой и/или легкой цепей, в частности, гипервариабельные участки, но также предполагаются изменения FR в тяжелой и/или легкой цепях. Замены предпочтительно представляют собой консервативные замены, описанные в данном документе. Предпочтительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот могут быть замещены в CDR, тогда как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот могут быть замещены в каркасных участках (FR) в зависимости от длины CDR или FR. Например, если последовательность CDR охватывает 6 аминокислот, подразумевается возможность замены одной, двух или трех из этих аминокислот. Аналогично, если последовательность CDR охватывает 15 аминокислот, подразумевается возможность замены одной, двух, трех, четырех, пяти или шести из этих аминокислот.

Применимый способ идентификации определенных остатков или участков в конструкциях на основе антител, которые являются предпочтительными местоположениями для мутагенеза, называется "аланин-сканирующий мутагенез", описанный Cunningham и Wells в Science, 244: 1081-1085 (1989). В данном случае идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней в пределах конструкции на основе антитела (например, заряженные остатки, такие как Arg, Asp, His, Lys и Glu) и заменяют их нейтральными или отрицательно заряженными аминокислотами (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином), влияя на взаимодействие аминокислот с эпитопом.

Затем те местоположения аминокислот, которые демонстрируют функциональную чувствительность к заменам, корректируют путем введения дополнительных или других вариантов в участках замен или для них. Таким образом, хотя участок для введения варианта аминокислотной последовательности определяют предварительно, собственно природа мутации не нуждается в предварительном определении. Например, чтобы проанализировать или оптимизировать характеристики мутации в данном сайте, можно провести сканирующий аланином или случайный мутагенез в целевом кодоне или участке и провести скрининг экспрессируемых вариантов конструкции на основе антитела в отношении оптимальной комбинации требуемой активности. Методики осуществления мутаций с замещением в предварительно определенных участках в ДНК с известной последовательностью, хорошо известны, например, это мутагенез с праймером M13 и ПЦР-мутагенез. Скрининг мутантов проводится с применением анализов антигенсвязывающей активности, такой как связывание MUC17 или CD3.

Как правило, если аминокислоты заменены в одной или нескольких или во всех CDR тяжелой и/или легкой цепей, то предпочтительно, чтобы полученная таким образом последовательность "с заменами" была на по меньшей мере 60 или 65%, более предпочтительно на 70 или 75%, еще более предпочтительно на 80 или 85% и особенно предпочтительно на 90 или 95% идентична "исходной" последовательности CDR. Это означает, что степень ее идентичности по отношению к последовательности "с заменами" зависит от длины CDR. Например, CDR, содержащая 5 аминокислот, предпочтительно является на 80% идентичной своей замещенной последовательности, чтобы по меньшей мере одна аминокислота была заменена. Соответственно, CDR конструкции на основе антитела могут иметь различную степень идентичности со своими замещенными последовательностями, например, у CDRL1 это может составлять 80%, тогда как у CDRL3 это может составлять 90%.

Предпочтительные замены (замещения) представляют собой консервативные замены. Однако предусматривается любая замена (в том числе неконсервативная замена или одна или несколько из "иллюстративных замен", перечисленных в табл. 3 ниже), при условии, что конструкция на основе антитела сохраняет свою способность к связыванию с MUC17 посредством первого домена и к CD3-эпсилон посредством второго домена и/или его CDR, характеризующихся идентичностью с такой последовательностью с заменами (которая на по меньшей мере 60 или 65%, более предпочтительно на 70 или 75%, еще более предпочтительно на 80 или 85% и особенно предпочтительно на 90 или 95% идентична "исходной" последовательности CDR).

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

Таблица 3
Аминокислотные замены

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

Существенные модификации биологических свойств конструкции на основе антитела по настоящему изобретению осуществляют путем выбора замен, значительно различающихся по своему эффекту в отношении поддержания (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде листовой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом участке или (c) объема боковой цепи. Встречающиеся в природе остатки подразделяют на группы на основании общих свойств боковых цепей: (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile; (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr, asn, gln; (3) кислые: asp, glu; (4) основные: his, lys, arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены включают замену представителя одного из этих классов представителем другого класса. Любой остаток цистеина, не принимающий участия в поддержании надлежащей конформации конструкции на основе антитела, можно заменять, как правило, серином, для улучшения устойчивости молекулы к окислению и предотвращения аномального перекрестного связывания. Напротив, в антитело можно добавить цистеиновую(цистеиновые) связь(связи) для улучшения его стабильности (особенно если антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fv-фрагмент).

Для аминокислотных последовательностей идентичность последовательности и/или сходство определяется с помощью стандартных методик, известных из уровня техники, включая без ограничения алгоритм локальной идентичности последовательности по Smith and Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2:482, алгоритм выравнивания идентичности последовательности по Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443, способ поиска сходства по Pearson and Lipman, 1988, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A 85:2444, компьютеризированные реализации данных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Мэдисон, Висконсин), программу Best Fit sequence, описанную в Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387-395, предпочтительно используя стандартные настройки или путем перебора. Предпочтительно процент идентичности рассчитывают с помощью FastDB, основываясь на следующих параметрах: штраф за несовпадение 1; штраф за введение гэпа 1; штраф за длину гэпа 0,33; и штраф за связывание 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis", Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

Примером используемого алгоритма является PILEUP. PILEUP создает множественное выравнивание последовательностей из группы связанных последовательностей, используя последовательные парные выравнивания. Он также может построить дерево, показывающее кластеризационные взаимосвязи, используемые для создания выравнивания. PILEUP использует упрощение способа последовательного выравнивания Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35:351-360; способ подобен тому, который описан в Higgins and Sharp, 1989, CABIOS 5:151-153. Используемые параметры PILEUP включают стандартный

штраф за введение гэпа 3,00, стандартный штраф за удлинение гэпа 0,10 и оцениваемые концевые гэпы.

Другим примером используемого алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; и Karin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. Особенно применимой программой BLAST является программа WU-BLAST-2, созданная Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. В WU-BLAST-2 используются несколько параметров поиска, для большинства из которых установлены стандартные значения. Корректируемые параметры установлены со следующими значениями: длина перекрытия = 1, доля перекрытия = 0,125, пороговая длина слова (T) = 11. Параметры HSP S и HSP S2 являются динамическими значениями и устанавливаются самой программой в зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, по которой проводится поиск представляющей интерес последовательности; при этом данные значения могут быть скорректированы для повышения чувствительности.

Дополнительным используемым алгоритмом является BLAST с введением гэпов согласно Altschul et al., 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402. В BLAST с введением гэпов используются баллы замены BLOSUM-62; пороговый параметр T установлен на 9; метод двух хитов для инициации удлинений без введения гэпов придает удлинению гэпа к значению $10+k$; Xu установлен на 16, и Xg установлен на 40 для стадии поиска в базе данных и 67 для завершающей стадии алгоритмов. Выравнивания с введением гэпами запускаются с помощью балла, соответствующего приблизительно 22 битам.

Как правило, аминокислотная гомология, сходство или идентичность между отдельными вариантами CDR или последовательностями VH/VL составляет по меньшей мере 60% с последовательностями, приведенными в данном документе, и, чаще всего, с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью, составляющей по меньшей мере 65 или 70%, более предпочтительно по меньшей мере 75 или 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и почти 100%. Аналогичным образом "процент (%) идентичности последовательности нуклеиновой кислоты" относительно последовательности нуклеиновой кислоты у связывающих белков, идентифицированных в данном документе, определяется как процент нуклеотидных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны с нуклеотидными остатками в кодирующей последовательности конструкции на основе антитела. В конкретном способе используется модуль BLASTN из WU-BLAST-2 с установленными по умолчанию параметрами, с длиной перекрытия и долей перекрытия установленными на 1 и 0,125 соответственно.

Обычно гомология, сходство или идентичность нуклеотидных последовательностей между нуклеотидными последовательностями, кодирующими отдельные варианты CDR или последовательности VH/VL, и нуклеотидными последовательностями, приведенными в данном документе, составляет по меньшей мере 60% и, чаще, с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью, составляющей по меньшей мере 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, или 99, и почти 100%. Таким образом, "вариант CDR" или "вариант участка VH/VL" представляет собой такой вариант, который имеет определенные гомологию, подобие или идентичность с родительскими CDR/VH/VL по настоящему изобретению, и имеет общую биологическую функцию, включая без ограничения по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, или 99% специфичность и/или активность родительских CDR или VH/VL.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения процент идентичности с зародышевой линией человека конструкций на основе антител в соответствии с настоящим изобретением составляет ≥ 70 или $\geq 75\%$, более предпочтительно ≥ 80 или $\geq 85\%$, еще более предпочтительно $\geq 90\%$ и наиболее предпочтительно ≥ 91 , ≥ 92 , ≥ 93 , ≥ 94 , ≥ 95 или даже $\geq 96\%$. Считается, что идентичность с продуктами генов антитела зародышевой линии человека является важным фактором для снижения риска того, что терапевтические белки будут вызывать иммунный ответ на лекарственное средство у пациента во время лечения. Hwang и Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; *Methods* 36 (2005) 3-10) демонстрируют, что уменьшение частей, не являющихся человеческими, в конструкциях на основе антител, представляющих собой лекарственные средства, приводит к снижению риска индукции антител к лекарственным средствам у пациентов во время лечения. При сравнении достаточного количества клинически оцененных лекарственных средств на основе антител и соответствующих данных по иммуногенности, была выявлена тенденция, что гуманизация V-участков антител делает белки менее иммуногенными (в среднем для 5,1% пациентов), чем антитела, несущие неизменные нечеловеческие V-участки (в среднем для 23,59% пациентов). Следовательно, для белковых терапевтических средств на основе V-участка в форме конструкций на основе антител необходима большая степень идентичности с человеческими последовательностями. Чтобы определить идентичность с зародышевой линией, V-участки VL можно выравнивать с аминокислотными последовательностями V-сегментов и J-сегментов зародышевой линии человека (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) с применением программного обеспечения Vector NTI и рассчитывать показатель в процентах для аминокислотной последовательности посредством деления идентичных аминокислотных остатков на общее число аминокислотных остатков VL. То же самое можно осуществлять для VH-сегментов (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) за исключением того, что CDR3 VH

может быть исключена вследствие высокой степени ее разнообразия и отсутствия в настоящее время партнеров по выравниванию среди CDR3 VH зародышевой линии человека. Затем можно применять рекомбинантные методики для повышения идентичности последовательностей с генами антител зародышевой линии человека.

В дополнительном варианте осуществления конструкции на основе биспецифических антител по настоящему изобретению проявляют высокие выходы мономеров в стандартных условиях исследовательского масштаба, например, в стандартном двустадийном способе очистки. Предпочтительно выход мономеров конструкций на основе антител в соответствии с настоящим изобретением составляет $\geq 0,25$ мг/л супернатанта, более предпочтительно $\geq 0,5$ мг/л, даже более предпочтительно ≥ 1 мг/л и наиболее предпочтительно ≥ 3 мг/л супернатанта.

Аналогично можно определить выход изоформ димерной конструкции на основе антитела и, следовательно, процентную долю мономера (т.е. мономер: (мономер+димер)) конструкций на основе антител. Продуктивность мономерных и димерных конструкций на основе антител и рассчитанная процентная доля мономеров могут, например, быть полученным на стадии очистки культуры от супернатанта с помощью SEC при стандартизированном получении в исследовательских масштабах в роллерных флаконах. В одном варианте осуществления процентное содержание мономеров конструкций на основе антител составляет $\geq 80\%$, более предпочтительно $\geq 85\%$, еще более предпочтительно $\geq 90\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 95\%$.

В одном варианте осуществления конструкции на основе антител предпочтительно характеризуются стабильностью в плазме крови (соотношением EC_{50} с плазмой крови и EC_{50} без плазмы крови), составляющей ≤ 5 или ≤ 4 , более предпочтительно $\leq 3,5$ или ≤ 3 , еще более предпочтительно $\leq 2,5$ или ≤ 2 и наиболее предпочтительно $\leq 1,5$ или ≤ 1 . Стабильность в плазме крови конструкции на основе антитела может быть проверена путем инкубации конструкции в плазме крови человека при 37°C в течение 24 ч с последующим определением EC_{50} в анализе цитотоксичности с высвобождением хрома ^{51}Cr . Эффекторные клетки в анализе цитотоксичности могут представлять собой стимулированные обогащенные человеческие CD8-положительные Т-клетки. Клетками-мишенями могут быть, например, клетки CHO, трансфицированные MUC17 человека. Соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней (E:T) может быть выбрано как 10:1 или 5:1. Применяемый в этих целях пул человеческой плазмы крови получают из крови здоровых доноров, собранной в покрытые EDTA шприцы. Клеточные компоненты удаляют путем центрифугирования, а верхнюю фазу в виде плазмы крови собирают и после этого объединяют. В качестве контроля конструкции на основе антитела разводят непосредственно перед анализом цитотоксичности в среде RPMI-1640. Стабильность в плазме крови рассчитывают как соотношение EC_{50} (после инкубации плазмы крови) и EC_{50} (контроля).

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

Также предпочтительно, чтобы биспецифические конструкции на основе антител по настоящему изобретению характеризовались очень низким уровнем преобразования в димеры после некоторого количества циклов замораживания/размораживания. Например, мономер конструкции на основе антитела доводят до концентрации 250 мкг/мл, например, в буфере генерического состава препарата и подвергли трем циклам замораживания/размораживания (замораживание при -80°C в течение 30 мин с последующим размораживанием в течение 30 мин при комнатной температуре) с последующей высокоэффективной SEC для определения процентной доли исходно мономерной конструкции на основе антитела, которая была преобразована в димерную конструкцию на основе антитела. Предпочтительно процентное содержание димеров конструкций на основе биспецифических антител составляет $\leq 5\%$, более предпочтительно $\leq 4\%$, даже более предпочтительно $\leq 3\%$, даже более предпочтительно $\leq 2,5\%$, даже более предпочтительно $\leq 2\%$, даже более предпочтительно $\leq 1,5\%$ и наиболее предпочтительно $\leq 1\%$ или даже $\leq 0,5\%$, например, после трех циклов замораживания/размораживания.

Конструкции на основе биспецифических антител по настоящему изобретению предпочтительно демонстрируют хорошую термостабильность с температурой агрегации ≥ 45 или $\geq 50^\circ\text{C}$, более предпочтительно ≥ 52 или $\geq 54^\circ\text{C}$, даже более предпочтительно ≥ 56 или $\geq 57^\circ\text{C}$ и наиболее предпочтительно ≥ 58 или $\geq 59^\circ\text{C}$. Параметр термостабильности можно определить в контексте температуры агрегации антитела следующим образом: Раствор антитела в концентрации 250 мкг/мл переносят в одноразовую кювету и помещают в устройство для исследования методом динамического рассеяния света (DLS). Образец нагревают от 40 до 70°C при скорости нагрева $0,5^\circ\text{C}/\text{мин}$ с постоянным измерением определяемого радиу-

са. Увеличение радиуса, указывающее на плавление и агрегацию белка, используют для расчета температуры агрегации антитела.

Альтернативно, температурные кривые плавления можно определить методом дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для определения характеристической биофизической стабильности белка конструкций на основе антител. Эти эксперименты проводят с использованием устройства Micro-Cal LLC (Нортхемптон, Массачусетс, США) VP-DSC. Поглощение энергии образцом, содержащим конструкцию на основе антитела, регистрируют в диапазоне от 20 до 90°C и сравнивают с образцом, содержащим только буфер для составления. Конструкции на основе антител доводили до конечной концентрации 250 мкг/мл, например, в SEC подвижном буфере. Для получения соответствующей кривой плавления пошагово повышают общую температуру образца. При каждой температуре T регистрируют поглощение энергии образца и эталона в виде буфера для составления. Разницу в поглощении энергии C_p (ккал/моль/°C) образца минус стандарт наносят на график как зависимость от соответствующей температуры. Температуру плавления определяют как температуру в первом максимуме поглощения энергии.

Также предполагается, что конструкции на основе биспецифических антител по настоящему изобретению к MUC17xCD3 характеризуются определенной мутностью (измеренной при OD340 после концентрирования очищенной конструкции на основе мономерного антитела до 2,5 мг/мл и инкубации в течение ночи), составляющей $\leq 0,2$, предпочтительно $\leq 0,15$, более предпочтительно $\leq 0,12$, еще более предпочтительно $\leq 0,1$ и наиболее предпочтительно $\leq 0,08$.

В дополнительном варианте осуществления конструкция на основе антитела в соответствии с настоящим изобретением является стабильной при физиологическом или немного более низком значении pH, т.е. pH от приблизительно 7,4 до 6,0. Чем более вынослива конструкция на основе антитела при отличном от физиологического значении pH, таком как pH 6,0, тем выше степень извлечения конструкции на основе антитела, элюируемой из ионообменной колонки, относительно общего количества загруженного белка. Извлечение конструкции на основе антитела из ионообменной (например, катионной) колонки при показателе приблизительно pH 6,0 составляет предпочтительно $\geq 30\%$, более предпочтительно $\geq 40\%$, более предпочтительно $\geq 50\%$, еще более предпочтительно $\geq 60\%$, еще более предпочтительно $\geq 70\%$, еще более предпочтительно $\geq 80\%$, еще более предпочтительно $\geq 90\%$, еще более предпочтительно $\geq 95\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 99\%$.

Дополнительно подразумевается, что конструкции на основе биспецифических антител по настоящему изобретению демонстрируют терапевтическую эффективность или противоопухолевую активность. Это можно оценить, например, в исследовании, как описано в следующем обобщенном примере модели ксенотрансплантата опухоли человека на поздней стадии.

В день 1 исследования 5×10^6 клеток из линии клеток рака, положительной в отношении человеческого целевого клеточного антигена (в данном случае MUC17), подкожно инъецируют в правую заднюю боковую часть самок мышей NOD/SCID. Когда средний объем опухоли достиг приблизительно 100 мм³, мышам трансплантировали размноженные *in vitro* CD3-положительные Т-клетки человека путем инъекции приблизительно 2×10^7 клеток в брюшную полость животных. Мыши из контрольной группы 1, обрабатываемой средой-носителем, не получали эффекторных клеток и применялись в качестве контроля без трансплантации для сравнения с контрольной группой 2, обрабатываемой средой-носителем (получавшей эффекторные клетки), для отслеживания влияния Т-клеток в отдельности на рост опухоли. Обработку антителами начинали, когда средний объем опухоли достиг приблизительно 200 мм³. Средний размер опухоли в каждой группе обработки в день начала обработки не должен статистически отличаться от объема в любой другой группе (дисперсионный анализ). Мышей обрабатывают 0,5 мг/кг/сутки конструкции на основе биспецифического антитела к MUC17xCD3 путем внутривенной болюсной инъекции в течение от приблизительно 15 до 20 суток. Опухоли измеряются штангенциркулем в ходе исследования, и прогрессирование оценивается путем межгруппового сравнения объемов опухолей (TV). Ингибирование роста опухоли T/C [%] определяют путем расчета TV как T/C% = $100 \times$ (медианный TV в анализируемой группе) / (медианный TV в контрольной группе 2).

Специалисту в данной области техники известно, как модифицировать или адаптировать определенные параметры этого исследования, такие как количество инъецируемых опухолевых клеток, место инъекции, количество трансплантируемых человеческих Т-клеток, предназначенное для введения количества конструкций на основе биспецифических антител и график введения, получая при этом значимый и воспроизводимый результат. Предпочтительно ингибирование роста опухоли T/C [%] составляет ≤ 70 или ≤ 60 , более предпочтительно ≤ 50 или ≤ 40 , даже более предпочтительно ≤ 30 или ≤ 20 и наиболее предпочтительно ≤ 10 или ≤ 5 или даже $\leq 2,5$. Ингибирование роста опухоли составляет предпочтительно около 100%.

В предпочтительном варианте осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению конструкция на основе антитела представляет собой конструкцию на основе одноцепочечного антитела.

Также в предпочтительном варианте осуществления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению указанный третий домен содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному

концу шарнирный участок-CH2-CH3-линкер-шарнирный участок-CH2-CH3.

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

Также в одном варианте осуществления настоящего изобретения домен CH2 одного или предпочтительно каждого (обоих) полипептидных мономеров третьего домена содержит внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик. Как известно из уровня техники, термин "цистеиновый дисульфидный мостик" относится к функциональной группе с общей структурой R-S-S-R. Эта связь также называется SS-связью или дисульфидным мостиком и получена путем соединения двух тиоловых групп цистеиновых остатков. Для конструкции на основе антитела по настоящему изобретению в особенности предпочтительно, чтобы цистеины, образующие цистеиновый дисульфидный мостик в зрелой конструкции на основе антитела, были введены в аминокислотную последовательность домена CH2, соответствующую положениям 309 и 321 (нумерация по Kabat).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения удален участок гликозилирования в положении 314 по Kabat домена CH2. Предпочтительно, что это удаление участка гликозилирования достигается путем замены N314X, где X представляет собой любую аминокислоту, исключаящую Q. Указанная замена предпочтительно представляет собой N314G. В более предпочтительном варианте осуществления указанный домен CH2 дополнительно содержит следующие замены (положения в соответствии с Kabat): V321C и R309C (эти замены вводят внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик в положениях 309 и 321 по Kabat).

Предполагается, что предпочтительные характеристики конструкции на основе антитела по настоящему изобретению по сравнению, например, с известной из уровня техники конструкцией на основе биспецифического антитела с гетеро-Fc (фигура 1b) могут быть, помимо прочего, связаны с введением вышеописанных модификаций в домен CH2. Таким образом, для конструкции по настоящему изобретению предпочтительно, чтобы домены CH2 в третьем домене конструкции на основе антитела по настоящему изобретению содержали внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик в положениях 309 и 321 по Kabat, и/или участок гликозилирования в положении 314 по Kabat был удален, предпочтительно путем замены N314G.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения домены CH2 в третьем домене конструкции на основе антитела по настоящему изобретению содержат внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик в положениях 309 и 321 по Kabat, а участок гликозилирования в положении 314 по Kabat удален посредством замены N314G. Наиболее предпочтительно полипептидный мономер в третьем домене конструкции на основе антитела по настоящему изобретению имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17 и 18.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусмотрена конструкция на основе антитела, в которой:

- (i) первый домен содержит два переменных домена антитела, и второй домен содержит два переменных домена антитела;
- (ii) первый домен содержит один переменный домен антитела, и второй домен содержит два переменных домена антитела;
- (iii) первый домен содержит два переменных домена антитела, и второй домен содержит один переменный домен антитела; или
- (iv) первый домен содержит один переменный домен антитела, и второй домен содержит один переменный домен антитела.

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

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

ID NO: 1.

В предпочтительном варианте осуществления конструкция на основе антитела по настоящему изобретению характеризуется тем, что она содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

- (a) первый домен;
- (b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;
- (c) второй домен;
- (d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;
- (e) первый полипептидный мономер третьего домена;
- (f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и
- (g) второй полипептидный мономер третьего домена.

Конструкция на основе антитела по настоящему изобретению содержит первый домен, который связывается с MUC17, предпочтительно с внеклеточным доменом (ECD) MUC17. Известно, что термин "связывание с внеклеточным доменом MUC17" в контексте настоящего изобретения означает, что связывающий домен связывается с MUC17, экспрессируемым на поверхности клетки-мишени. Следовательно, первый домен в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно связывается с MUC17, когда он экспрессируется клетками или линиями клеток с естественной экспрессией и/или клетками или линиями клеток, трансформированными или (стабильно/временно) трансфицированными MUC17. В предпочтительном варианте осуществления первый связывающий домен также связывается с MUC17, когда MUC17 используется в качестве молекулы "мишени" или "лиганда" в *in vitro* анализе связывания, таком как ВІАсоге или анализ Скэтчарда. "Клетка-мишень" может представлять собой любую прокариотическую или эукариотическую клетку, экспрессирующую MUC17 на своей поверхности; предпочтительно клетка-мишень представляет собой клетку, которая является частью организма человека или животного, такую как конкретные экспрессирующие MUC17 раковые или опухолевые клетки.

Предпочтительно первый связывающий домен связывается с MUC17/ECD MUC17 человека. В дополнительном предпочтительном варианте осуществления он связывается с MUC17/ECD MUC17 макака. В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления он связывается с MUC17/ECD MUC17 как человека, так и макака. "Внеклеточный домен MUC17" или "ECD MUC17" относится к участку или последовательности MUC17, которая практически не содержит трансмембранных и цитоплазматических доменов MUC17. Специалисту в данной области техники будет понятно, что трансмембранный домен, определяемый для полипептида MUC17 по настоящему изобретению, определяется на основании критериев, обычно применяемых в данной области техники для определения гидрофобного домена такого типа. Точные границы трансмембранного домена могут варьировать, но, вероятнее всего, в пределах не более чем приблизительно 5 аминокислот на каждом конце домена, конкретно упоминаемого в данном документе.

Предпочтительные связывающие домены, которые связываются с MUC17, описаны в WO 2010/037836 и WO 2011/121110. Любой связывающий домен для MUC17, описанный в этих заявках, можно применять в контексте настоящего изобретения.

В одном аспекте настоящего изобретения конструкция на основе антитела содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

- (a) первый домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, 56, 68, 74, 86, 92, 104, 110, 122, 128, 140, 146, 158, 164, 176, 182, 194, 200, 212, 218, 230, 236, 248, 254, 266, 272, 284, 290, 302, 308, 320, 335, 350, 365, 380, 395, 410, 425, 440, 455, 470;
- (b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;
- (c) второй домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 в WO 2008/119567, или приведенную под SEQ ID NO: 15;
- (d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;
- (e) первый полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24;
- (f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и
- (g) второй полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

В соответствии с этим предпочтительным вариантом осуществления первый и второй домены, которые слиты посредством пептидного линкера с одноцепочечным полипептидом, содержат последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, 57, 69, 75, 87, 93, 105, 111, 123, 129, 141, 147, 159, 165, 177, 183, 195, 201, 213, 219, 231, 237, 249, 255, 267, 273, 285, 291, 303, 309, 321, 324, 336,

339, 351, 354, 366, 369, 381, 384, 396, 399, 411, 414, 426, 429, 441, 444, 456, 459, 471 и 474.

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

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены полинуклеотид/молекула нуклеиновой кислоты, кодирующие конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению. Полинуклеотид представляет собой биополимер, состоящий из 13 или более нуклеотидных мономеров, ковалентно связанных в цепи. ДНК (такие как cDNA) и РНК (такие как mRNA) представляют собой примеры полинуклеотидов с определенной биологической функцией. Нуклеотиды представляют собой органические молекулы, служащие в качестве мономеров или субъединиц молекул нуклеиновых кислот, таких как ДНК или РНК. Молекула нуклеиновой кислоты или полинуклеотид может быть двухцепочечной или одноцепочечной, линейной или кольцевой. Предпочтительно она содержится в векторе, который предпочтительно находится в клетке-хозяине. Указанная клетка-хозяин, например, после трансформации или трансфекции вектором или полинуклеотидом по настоящему изобретению, способна к экспрессии конструкции на основе антитела. Для этой цели полинуклеотид или молекула нуклеиновой кислоты функционально связаны с регуляторными последовательностями.

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

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрен вектор, содержащий полинуклеотид/молекулу нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению. Вектор представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, применяемую в качестве среды-носителя для переноса (чужеродного) генетического материала в клетку. Термин "вектор" охватывает без ограничения плазмиды, вирусы, космиды и искусственные хромосомы. Обычно сконструированные векторы содержат точку начала репликации, участок мультиклонирования и селективный маркер. Собственно вектор, как правило, представляет собой нуклеотидную последовательность, обычно последовательность ДНК, содержащую вставку (трансген) и более крупную последовательность, которая служит в качестве "остова" вектора. Современные векторы могут включать дополнительные элементы помимо вставки трансгена и остова: промотор, генетический маркер, устойчивость к антибиотикам, репортерный ген, нацеливающую последовательность, метку для очистки белка. Векторы, называемые экспрессионными векторами (экспрессионными конструкциями) специально предназначены для экспрессии трансгена в клетке-мишени и обычно содержат регуляторные последовательности.

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

Нуклеиновая кислота "функционально связана", если она размещена в функциональной взаимосвязи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК, кодирующая предпоследовательность или лидерную последовательность для секреции, функционально связана с ДНК, кодирующей полипептид, если она экспрессируется в виде белка-предшественника, участвующего в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связаны с кодирующей последовательностью, если они влияют на транскрипцию последовательности; или сайт связывания рибосом функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, чтобы содействовать трансляции. Как правило, "функционально связанный" означает, что связанные последовательности ДНК являются смежными, а в случае лидерной последовательности для секреции являются смежными и находятся в фазе считывания. При этом энхансеры не должны быть смежными. Связывание осуществляется путем лигирования в удобных сайтах рестрикции. Если такие участки не существуют, используют синтетические адаптеры или линкеры в соответствии с традиционной практикой.

"Трансфекция" представляет собой процесс преднамеренного введения молекул нуклеиновой ки-

слоты или полинуклеотидов (в том числе векторов) в клетки-мишени. Этот термин используется в основном для невирусных методик в эукариотических клетках. Трансдукцию часто используют для описания опосредованного вирусом переноса молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов. Трансфекция клеток животных, как правило, включает открытие временных пор или "отверстий" в клеточной мембране, чтобы обеспечить поглощение материала. Трансфекцию можно проводить с помощью фосфата кальция, путем электропорации, путем сжимания клеток или путем смешивания катионного липида с материалом для получения липосом, которые сливаются с клеточной мембраной и откладывают свой груз внутри.

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

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрена клетка-хозяин, трансформированная или трансфицированная полинуклеотидом/молекулой нуклеиновой кислоты или вектором по настоящему изобретению. Как применяется в данном документе, термины "клетка-хозяин" или "клетка-реципиент" предназначены для включения любой отдельной клетки или культуры клеток, которые могут быть или была/были реципиентами векторов, молекул экзогенной нуклеиновой кислоты и полинуклеотидов, кодирующих конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению; и/или реципиентами самой конструкции антитела. Введение соответствующего материала в клетку проводят путем трансформации, трансфекции и т.д. Также предполагается, что термин "клетка-хозяин" включает потомство или потенциальное потомство одной клетки. Поскольку в последующих поколениях могут иметь место определенные модификации вследствие естественной, случайной или преднамеренной мутации или вследствие влияния со стороны окружающей среды, такое потомство может в действительности быть не полностью идентичным (по морфологии или по комплексу геномной или общей ДНК) родительской клетке, но по-прежнему включаться в объем термина, применяемого в данном документе. Подходящие клетки-хозяева включают прокариотические или эукариотические клетки и также включают без ограничения бактерии, клетки дрожжей, клетки грибов, клетки растений и клетки животных, такие как клетки насекомых и клетки млекопитающих, например, мыши, крысы, макака или человека.

Конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению можно получать в бактериях. После экспрессии конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению выделяют из клеточной массы *E. coli* в растворимой фракции, и ее можно очищать посредством, например, аффинной и/или эксклюзионной хроматографии. Завершающую очистку можно проводить аналогично способу очистки антитела, экспрессируемого, например, в клетках СНО.

Кроме прокариот, подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии конструкции на основе антитела по настоящему изобретению являются эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи. *Saccharomyces cerevisiae*, или обыкновенные пекарские дрожжи, наиболее часто применяются среди низших эукариотических микроорганизмов-хозяев. Однако широкодоступными и применимыми в данном документе являются многие другие роды, виды и штаммы, такие как *Schizosaccharomyces pombe*, хозяева из рода *Kluyveromyces*, такие как *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilae* (ATCC 36906), *K. thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402226); *Pichia pastoris* (EP 183070); *Candida*; *Trichoderma reesei* (EP 244234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces*, такие как *Schwanniomyces occidentalis*; и мицелиальные грибы, такие как *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolyposcladium*, и хозяева из рода *Aspergillus*, такие как *A. nidulans* и *A. niger*.

Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированной конструкции на основе антитела по настоящему изобретению получены из многоклеточных организмов. Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Было идентифицировано множество штаммов и вариантов бакуловирусов и соответствующие перmissive клетки-хозяева от таких насекомых-хозяев, как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (комар), *Aedes albopictus* (комар), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombyx mori*. Общедоступными являются различные штаммы вирусов для трансфекции, например, вариант L-1 NPV *Autographa californica* и штамм Bm-5 NPV *Bombyx mori*, и такие вирусы можно применять в данном документе в качестве вируса согласно настоящему изобретению, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

Культуры клеток растений из хлопчатника, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томата, арабидопсиса и табака также можно использовать в качестве хозяев. Клонированные и экспрессионные векторы, применимые для получения белков в культуре клеток растений, известны специалистам в данной области

техники. См., например, Hiatt et al., *Nature* (1989) 342: 76-78, Owen et al. (1992) *Bio/Technology* 10: 790-794, Artsaenko et al. (1995) *The Plant J* 8: 745-750, и Fecker et al. (1996) *Plant Mol Biol* 32: 979-986.

Однако наибольший интерес представляли клетки позвоночных, и размножение клеток позвоночных в культуре (культуре тканей) стало обычной процедурой. Примерами используемых линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия клеток почек обезьяны CV1, трансформированная с помощью SV40 (C0S-7, ATCC CRL 1651); линия эмбриональных клеток почек человека (293 или клетки 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., *J. Gen Virol.* 36: 59 (1977)); клетки почек новорожденного хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичников китайского хомячка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)); клетки Сертоли мыши (TM4, Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); клетки почек обезьяны (CV1, ATCC CCL 70); клетки почек африканской зеленой марышки (VERO-76, ATCC CRL1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почек собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легких человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, 1413 8065); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL5 1); клетки TRI (Mather et al., *Annals N. Y Acad. Sci.* (1982) 383: 44-68); клетки MRC 5; клетки FS4; и линия гепатомы человека (Hep G2).

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ получения конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, при этом указанный способ предусматривает культивирование клетки-хозяина по настоящему изобретению в условиях, обеспечивающих возможность экспрессии конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, и выделение полученной конструкции на основе антитела из культуры.

Используемый в данном документе термин "культивирование" относится к поддержанию, дифференцировке, росту, пролиферации и/или размножению клеток *in vitro* в подходящих условиях в культуральной среде. Термин "экспрессия" включает любую стадию, включенную в получение конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, в том числе без ограничения транскрипцию, посттранскрипционную модификацию, трансляцию, посттрансляционную модификацию и секрецию.

При применении рекомбинантных технологий конструкцию на основе антитела можно получать внутри клетки, в периплазматическом пространстве или она может секретироваться непосредственно в среду. Если конструкцию на основе антитела получают внутри клетки, то на первой стадии дебрис в форме частиц, представляющий собой либо клетки-хозяева, либо лизированные фрагменты, удаляют, например путем центрифугирования или ультрафильтрации. В Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992) описана процедура выделения антител, секретируемых в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную массу размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA и фенолметилсульфонилфторида (PMSF) в течение приблизительно 30 мин. Клеточный дебрис можно удалить путем центрифугирования. Если антитело секретируется в среду, образцы надосадочной жидкости из таких систем экспрессии, как правило, вначале концентрируют с применением коммерчески доступного фильтра для концентрирования белков, например, ультрафильтрационной установки Amicon или Millipore Pellicon. На любой из предыдущих стадий может быть включен ингибитор протеазы, такой как PMSF, для ингибирования протеолиза, и могут быть включены антибиотики для предотвращения роста случайно занесенных загрязнителей.

Конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению, полученную из клеток-хозяев, можно выделять или очищать, используя, например, хроматографию на гидроксилпатите, геле-электрофорез, диализ и аффинную хроматографию. Также доступны другие методики очистки белков, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая HPLC, хроматография на силикагеле, хроматография на гепарин-сефарозе (SEPHAROSE™), хроматография на анионообменной или катионообменной смоле (как например, в колонке с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусирование, SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония в зависимости от антитела, которое необходимо извлечь. Если конструкция на основе антитела по настоящему изобретению содержит домен СН3, для ее очистки применяют смолу Bakerbond ABX (J.T. Baker, Филлипсберг, Нью-Джерси).

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

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению или конструкцию на основе антитела, полученную в соответствии со способом по настоящему изобретению. В случае фармацевтической композиции по настоящему изобретению предпочтительно, чтобы гомогенность конструкции на основе антитела составляла $\geq 80\%$, более предпочтительно ≥ 81 , ≥ 82 , ≥ 83 , ≥ 84 или $\geq 85\%$, еще предпочтительнее ≥ 86 , ≥ 87 , ≥ 88 , ≥ 89 или $\geq 90\%$, еще предпочтительнее ≥ 91 , ≥ 92 , ≥ 93 , ≥ 94 или $\geq 95\%$ и наиболее предпочтительно ≥ 96 , ≥ 97 , ≥ 98 или $\geq 99\%$.

Применяемый в данном документе термин "фармацевтическая композиция" относится к композиции для введения пациенту, предпочтительно пациенту-человеку. В частности, предпочтительная фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит одну или совокупность конструкций на основе антител по настоящему изобретению, предпочтительно в терапевтически эффективном количестве. Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит подходящие составы из одного или нескольких (фармацевтически эффективных) носителей, стабилизаторов, вспомогательных веществ, разбавителей, солюбилизаторов, поверхностно-активных веществ, эмульгаторов, консервантов и/или адъювантов. Приемлемые составляющие композиции предпочтительно являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают без ограничения жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции.

Композиции по настоящему изобретению могут содержать фармацевтически приемлемый носитель. В целом применяемый в данном документе "фармацевтически приемлемый носитель" означает какие-либо и все водные и неводные растворы, стерильные растворы, растворители, буферы, например, фосфатно-солевые буферные растворы (PBS), воду, суспензии, эмульсии, такие как эмульсии типа масло/вода, различные типы смачивающих средств, липосомы, дисперсионные среды и покрытия, которые совместимы с фармацевтическим введением, в частности с парентеральным введением. Применение таких сред и средств в фармацевтических композициях хорошо известно из уровня техники, и композиции, содержащие такие носители, можно составлять с помощью хорошо известных традиционных способов.

В определенных вариантах осуществления предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению и дополнительно одно или несколько вспомогательных веществ, таких как те, которые в иллюстративных целях описаны в данном разделе и в другом месте данного документа. В этом отношении в настоящем изобретении могут применяться вспомогательные вещества для широкого спектра целей, таких как регулирование физических, химических или биологических свойств составов, таких как регулирование вязкости, и/или способы по настоящему изобретению, предназначенные для повышения эффективности и/или стабилизации таких составов, и способы, направленные против деградации и ухудшения качества, например, по причине стрессов, возникающих в ходе изготовления, доставки, хранения, подготовки перед использованием, введения и после него.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может содержать материалы состава, предназначенные для изменения, поддержания или сохранения, например, значения pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проникновения композиции (см., REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company). В таких вариантах осуществления подходящие материалы для составления могут включать без ограничения аминокислоты, такие как глицин, аланин, глутамин, аспарагин, треонин, пролин, 2-фенилаланин, в том числе заряженные аминокислоты, предпочтительно лизин, ацетат лизина, аргинин, глутамат и/или гистидин;

противомикробные средства, такие как антибактериальные и противогрибковые средства; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, метионин, сульфит натрия или гидрогенсульфит натрия;

буферы, буферные системы и буферные средства, которые применяются с целью поддержания композиции при физиологическом значении pH или немного более меньшем значении pH, предпочтительно значении pH меньше, чем 4,0-6,5; примеры буферов представляют собой борат, бикарбонат, Tris-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты, сукцинат, фосфат и гистидин; например, Tris-буфер при pH приблизительно 7,0-8,5;

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

водные носители, включая воду, спиртовые/водные носители, эмульсии или суспензии, включая солевые и забуференные среды;

биоразлагаемые полимеры, такие как сложные полиэфиры;

объемообразующие средства, такие как маннит или глицин;

хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA);

изотонические средства и средства, замедляющие абсорбцию;

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

наполнители;

моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); при этом углеводы могут быть невосстанавливающими сахарами, предпочтительно трегалозой, сахарозой, октосульфатом, сорбитом или ксилитом;

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

ждения;

красители и ароматизаторы;
 серосодержащие восстановители, такие как глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, [альфа]-монотиоглицерин и тиосульфат натрия;
 разбавители;
 эмульсификаторы;
 гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон;
 солеобразующие противоионы, такие как натрий;
 консерванты, такие как противомикробные средства, антиоксиданты, хелатирующие средства, инертные газы и т.п.; примеры представляют собой хлорид бензалкония, бензойную кислоту, салициловую кислоту, тимеросал, фенол, фенолэтиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновую кислоту или пероксид водорода);
 комплексы металлов, такие как комплексы Zn-белок;
 растворители и соразтворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль);
 сахара и сахароспирты, такие как трегалоза, сахароза, октосульфат, маннит, сорбит или ксилит, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, миоинозитола, галактоза, лактит, рибит, миоинозит, галактит, глицерин, циклиты (например, инозит), полиэтиленгликоль; и многоатомные сахароспирты;
 суспендирующие средства;
 поверхностно-активные вещества или увлажняющие средства, такие как плуроники, PEG, сложные эфиры сорбита, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал; при этом поверхностно-активные вещества могут быть детергентами с предпочтительной молекулярной массой >1,2 кДа и/или простым полиэфиром с предпочтительной молекулярной массой >3 кДа; неограничивающие примеры для предпочтительных детергентов представляют собой Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 и Tween 85; неограничивающие примеры для предпочтительных простых полиэфиров представляют собой PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000 и PEG 5000;
 средства, повышающие стабильность, такие как сахароза или сорбит;
 средства, повышающие тоничность, такие как галиды щелочных металлов, предпочтительно хлорид натрия или калия, маннит, сорбит;

среды-носители для парентерального введения, включая раствор хлорида натрия, раствор Рингера с декстрозой, хлорид натрия с декстрозой, раствор Рингера с лактатом или нелетучие масла;

среды-носители для внутривенного введения, включая жидкость и добавки питательных веществ, добавки электролитов (например, лежащие в основе раствора Рингера с декстрозой).

В контексте настоящего изобретения, фармацевтическая композиция, которая предпочтительно является жидкой композицией, или которая может быть твердой композицией, полученной путем лиофилизации, или может быть восстановленной жидкой композицией, содержит:

(a) конструкцию на основе антигена, содержащую по меньшей мере три домена, где первый домен связывается с поверхностным антигеном клетки-мишени и характеризуется изоэлектрической точкой (pI) в диапазоне от 4 до 9,5;

второй домен связывается со вторым антигеном и характеризуется pI в диапазоне от 8 до 10, предпочтительно от 8,5 до 9,0; и

необязательно третий домен содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирный участок, домен СН₂ и домен СН₃, где указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера;

(b) по меньшей мере одно буферное средство;

(c) по меньшей мере один сахарид; и

(d) по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество; и

где значение рН фармацевтической композиции находится в диапазоне от 3,5 до 6.

В контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается, что по меньшей мере одно буферное средство присутствует при концентрации в диапазоне 5-200 мМ, более предпочтительно при концентрации в диапазоне 10-50 мМ. В контексте настоящего изобретения предусматривается, что по меньшей мере один сахарид выбран из группы, состоящей из моносахарида, дисахарида, циклического полисахарида, сахароспирта, линейного разветвленного декстрана или линейного неразветвленного декстрана. Также в контексте настоящего изобретения предусматривается, что дисахарид выбран из группы, состоящей из сахарозы, трегалозы и маннита, сорбита и их комбинаций. В контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается, что сахароспирт представляет собой сорбит. В контексте настоящего изобретения предусматривается, что по меньшей мере один сахарид присутствует при концентрации в диапазоне от 1 до 15% (вес./об.), предпочтительно при концентрации в диапазоне от 9 до 12% (вес./об.).

Также в контексте настоящего изобретения предусматривается, что по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество выбрано из группы, состоящей из полисорбата 20, полисорбата 40, полисорбата 60, полисорбата 80, полуксамера 188, плуроника F68, Triton X-100, полиоксиэтилена, PEG 3350, PEG 4000 и их комбинаций. В контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается, что

по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество присутствует при концентрации в диапазоне от 0,004 до 0,5% (вес./об.), предпочтительно в диапазоне от 0,001 до 0,01% (вес./об.). В контексте настоящего изобретения предусматривается, что значение pH композиции находится в диапазоне от 4,0 до 5,0, предпочтительно составляет 4,2. Также в контексте настоящего изобретения предусматривается, что фармацевтическая композиция характеризуется осмолярностью в диапазоне от 150 до 500 мОсм. В контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается, что фармацевтическая композиция дополнительно содержит вспомогательное средство, выбранное из группы, состоящей из одного или нескольких полиолов и одной или нескольких аминокислот. В контексте настоящего изобретения предусматривается, что указанное одно или несколько вспомогательных средств присутствуют при концентрации в диапазоне от 0,1-15% (вес./об.).

Также в контексте настоящего изобретения предусматривается, что фармацевтическая композиция содержит:

- (a) конструкцию на основе антитела, рассмотренную выше;
- (b) 10 мМ глутамата или ацетата;
- (c) 9% (вес./об.) сахарозы или 6% (вес./об.) сахарозы и 6% (вес./об.) гидроксипропил- β -циклодекстрина;
- (d) 0,01% (вес./об.) полисорбата 80, и при этом значение pH жидкой фармацевтической композиции составляет 4,2.

В контексте настоящего изобретения дополнительно предусматривается, что конструкция на основе антитела присутствует при концентрации в диапазоне 0,1-8 мг/мл, предпочтительно 0,2-2,5 мг/мл, более предпочтительно 0,25-1,0 мг/мл.

Для специалистов в данной области техники очевидно, что различные составляющие фармацевтической композиции (например, перечисленные выше) могут оказывать различные эффекты, например, аминокислота может действовать в качестве буфера, стабилизатора и/или антиоксиданта; маннит может действовать в качестве объемобразующего средства и/или средства, повышающего тоничность; хлорид натрия может действовать в качестве среды-носителя для доставки и/или средства, повышающего тоничность, и т.д.

Подразумевается, что композиция по настоящему изобретению может содержать в дополнение к определенному в данном документе полипептиду по настоящему изобретению дополнительные биологически активные средства в зависимости от предполагаемого применения композиции. Такие средства могут представлять собой лекарственные средства, действующие на желудочно-кишечный тракт, лекарственные средства, действующие в качестве цитостатических средств, лекарственные средства, предупреждающие гиперурикемию, лекарственные средства, подавляющие иммунные реакции (например, кортикостероиды), лекарственные средства, модулирующие воспалительную реакцию, лекарственные средства, действующие на кровеносную систему, и/или средства, такие как цитокины, известные из уровня техники. Также предусматривается, что конструкция на основе антитела по настоящему изобретению применяется в качестве комбинированной терапии, т.е. в комбинации с другим противораковым лекарственным препаратом.

В некоторых вариантах осуществления оптимальная фармацевтическая композиция будет определена специалистом в данной области техники в зависимости, например, от способа введения, формата доставки и требуемой дозировки. См., например, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше. В определенных вариантах осуществления такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость *in vivo* высвобождения и скорость *in vivo* выведения конструкции на основе антитела по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления основная среда-носитель или основной носитель в фармацевтической композиции могут являться либо водными, либо неводными по своей природе. Например, подходящими средой-носителем или носителем могут являться вода для инъекций, физиологический солевой раствор или искусственная спинномозговая жидкость, возможно, дополненная другими материалами, традиционно используемыми в композициях для парентерального введения. Нейтральный буферный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином, являются дополнительным примером сред-носителей. В некоторых вариантах осуществления конструкция на основе антитела композиций по настоящему изобретению может быть подготовлена для хранения посредством смешивания выбранной композиции, характеризующейся требуемой степенью чистоты, с необязательными средствами для составления (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше) в виде лиофилизированной массы или водного раствора. Кроме того, в определенных вариантах осуществления конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению можно составлять в виде лиофилизата, используя соответствующие вспомогательные вещества, такие как сахароза.

Если предполагается парентеральное введение, то терапевтические композиции для применения в настоящем изобретении можно получать в виде апирогенного приемлемого для парентерального введения водного раствора, содержащего необходимую конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению в фармацевтически приемлемой среде-носителе. В частности, подходящей средой-носителем для парентерального введения является стерильная дистиллированная вода, в которой конструкцию на основе антитела согласно настоящему изобретению готовят в виде стерильного, изотонического раство-

ра, сохраняемого должным образом. В некоторых вариантах осуществления получение может включать составление требуемой молекулы с таким средством, как инъеклируемые микросферы, биоразлагаемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), гранулы или липосомы, которые могут обеспечивать контролируемое или замедленное высвобождение продукта, который может быть доставлен посредством инъекции вещества замедленного всасывания. В некоторых вариантах осуществления также может быть использована гиалуроновая кислота, обладающая эффектом обеспечения пролонгированного действия в системном кровотоке. В конкретных вариантах осуществления имплантируемые устройства для доставки лекарственных средств могут быть использованы для введения требуемой конструкции на основе антитела.

Дополнительные фармацевтические композиции будут очевидны для специалистов в данной области техники, включая составы, содержащие конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению в составах для замедленного высвобождения или контролируемых доставки/высвобождения. Также специалистам в данной области техники известны способы составления ряда других средств с замедленной или контролируемой доставкой, таких как липосомные носители, биоразлагаемые микрочастицы или пористые гранулы, а также инъекционные вещества замедленного всасывания. Смотрите, например, международную заявку на патент № PCT/US93/00829, в которой описано контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. Препараты с замедленным высвобождением могут включать полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Матрицы с замедленным высвобождением могут включать сложные полиэфиры, гидрогели, полилактиды (как описано в патенте США № 3773919 и публикации заявки на Европейский патент № EP 058481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman et al., 1983, *Biopolymers* 2:547-556), поли(2-гидроксиэтилметакрилат) (Langer et al., 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 и Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., 1981, выше) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (публикация заявки на Европейский патент № EP 133988). Композиции с замедленным высвобождением могут также включать липосомы, которые могут быть получены посредством любого из нескольких способов, известных из уровня техники. См., например, Eppstein et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692; публикации заявок на Европейский патент № EP 036676; EP 088046 и EP 143949.

Конструкцию на основе антитела также можно заключать в микрокапсулы, получаемые, например, с помощью методик коацервации или с помощью полимеризации на границе раздела фаз (например, микрокапсулы из гидроксиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсулы из полиметилметакрилата, соответственно), в коллоидные системы доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в макроэмульсии. Такие методики раскрыты в Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980).

Фармацевтические композиции, применяемые для введения *in vivo*, как правило, представлены в виде стерильных препаратов. Стерилизация может быть достигнута посредством фильтрации с помощью стерильных фильтрационных мембран. Если композиция лиофилизирована, то стерилизация с помощью данного способа может быть выполнена либо до лиофилизации и восстановления, либо после них. Композиции для парентерального введения можно хранить в лиофилизированной форме или в растворе. Как правило, композиции для парентерального введения помещают в контейнер, имеющий стерильное входное отверстие, например, пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций.

Другой аспект настоящего изобретения включает самобуферизующиеся составы конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, которые можно применять в качестве фармацевтических композиций, что описано в международной заявке на патент WO 06138181A2 (PCT/US2006/022599). Разнообразные объяснения доступны в отношении стабилизации белка и материалов для составления и способов, пригодных в этом отношении, такие как Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations", *Pharm Res.* 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" в *RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE*, Carpenter and Manning, eds. *Pharmaceutical Biotechnology*. 13: 61-84 (2002), и Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", *Pharm Biotechnol.* 13: 159-75 (2002), в частности, смотрите части, относящиеся к вспомогательным веществам и связанным с ними процессам для самобуферизующихся составов на основе белков в соответствии с настоящим изобретением, в особенности к фармацевтическим продуктам на основе белков и процессам для применений в ветеринарии и/или медицине человека.

Соли могут быть использованы в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения с целью, например, регулирования ионной силы и/или изотоничности состава и/или улучшения растворимости и/или физической стабильности белка или другого ингредиента композиции в соответствии с настоящим изобретением. Хорошо известно, что ионы могут стабилизировать нативное состояние белков путем связывания с заряженными остатками на поверхности белка и путем экранирования заряженных и полярных групп в белке и снижения силы их электростатических взаимодействий, притягивающих и отталкивающих взаимодействий. Ионы также могут стабилизировать денатурированное состояние белка путем связывания, в частности, денатурированных пептидных связей (-CONH) бел-

ка. Кроме того, ионное взаимодействие с заряженными и полярными группами в белке также может уменьшить межмолекулярные электростатические взаимодействия и за счет этого предотвращать или уменьшать агрегацию и нерастворимость белка.

Ионные соединения существенно различаются по своему воздействию на белки. Был разработан ряд категориальных градаций ионов и их влияний на белки, которые можно применять в составлении фармацевтических композиций в соответствии с настоящим изобретением. Одним из примеров является ряд Хофмейстера, который ранжирует ионные и полярные неионные растворенные вещества по их влиянию на конформационную стабильность белков в растворе. Стабилизирующие растворенные вещества называются "космотропными". Дестабилизирующие растворенные вещества называются "хаотропными". Космотропы обычно используются в высоких концентрациях (например, >1 моль/л сульфата аммония) для осаждения белков из раствора ("высаливание"). Хаотропы обычно используются для протезирования зубов и/или для солюбилизации белков ("всаливания"). Относительная эффективность ионов к "всаливанию" и "высаливанию" определяет их положение в ряде Хофмейстера.

Свободные аминокислоты можно использовать в составах конструкции на основе антитела по настоящему изобретению в соответствии с различными вариантами осуществления настоящего изобретения в качестве объемообразующих средств, стабилизаторов и антиоксидантов, а также для других стандартных вариантов применения. Лизин, пролин, серин и аланин могут быть использованы для стабилизации белков в составе. Глицин применим в лиофилизации для обеспечения правильной структуры и свойств массы. Аргинин может быть применим для ингибирования агрегации белка как в жидких, так и в лиофилизированных составах. Метионин применяют в качестве антиоксиданта.

Полиолы включают сахара, например, маннит, сахарозу и сорбит, и многоатомные спирты, такие как, например, глицерин и пропиленгликоль, и для целей обсуждения в данном документе полиэтиленгликоль (PEG) и родственные ему вещества. Полиолы являются космотропными. Они представляют собой применимые стабилизирующие средства как в жидких, так и в лиофилизированных составах для защиты белков от физических и химических процессов деградации. Полиолы также применимы для регулирования тоничности составов. В число полиолов, применимых в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, входит маннит, обычно применяемый для обеспечения структурной стабильности массы в лиофилизированных составах. Это обеспечивает структурную стабильность массы. Обычно его применяют с лиопротектором, например сахарозой. Сорбит и сахароза являются одними из предпочтительных средств для регулирования тоничности и в качестве стабилизаторов для защиты от стрессов, обусловленных замерзанием-оттаиванием, в ходе транспортировки или получения сыпучих материалов в процессе производства. Восстанавливающие сахара (которые содержат свободные альдегидные или кетонные группы), такие как глюкоза и лактоза, могут гликировать поверхностные остатки лизина и аргинина. Следовательно, они обычно не входят в число предпочтительных полиолов для применения в соответствии с настоящим изобретением. Кроме того, сахара, которые образуют такие реакционноспособные соединения, такие как сахароза, которая гидролизует до фруктозы и глюкозы в кислых условиях, и, следовательно, вызывает гликирование, также не входят в число предпочтительных полиолов по настоящему изобретению в этом отношении. PEG применим для стабилизации белков и в качестве криопротектора, и может в этом отношении применяться в настоящем изобретении.

Варианты осуществления составов конструкции на основе антитела по настоящему изобретению дополнительно предусматривают поверхностно-активные вещества. Молекулы белка могут быть подвержены адсорбции на поверхностях и денатурации и последующей агрегации на границах раздела воздух-жидкость, твердое тело-жидкость и жидкость-жидкость. Эти эффекты обычно обратно пропорциональны концентрации белка. Как правило, эти вредные взаимодействия обратно пропорциональны концентрации белка и обычно усугубляются физическим перемешиванием, например, возникающим при транспортировке и манипуляции с продуктом. Поверхностно-активные вещества обычно применяются для предотвращения, минимизации или уменьшения поверхностной адсорбции. Применимые поверхностно-активные вещества в настоящем изобретении в этом отношении включают полисорбат 20, полисорбат 80, другие сложные эфиры жирных кислот и сорбитанполиэтоксилатов и полоксамер 188. Поверхностно-активные вещества также обычно применяются для контроля конформационной стабильности белка. Применение поверхностно-активных веществ в этом отношении является специфичным для белка, поскольку любое указанное поверхностно-активное вещество обычно стабилизирует одни белки и дестабилизирует другие.

Полисорбаты чувствительны к окислительной деградации и, зачастую, при поставке содержат достаточное количество пероксидов, чтобы вызвать окисление боковых цепей белковых остатков, особенно метионина. Следовательно, полисорбаты следует применять осторожно, и при их применении следует их использовать в наименьшей эффективной концентрации. В этом отношении полисорбаты служат примером общего правила, согласно которому вспомогательные вещества следует применять в их наименьших эффективных концентрациях.

Варианты осуществления составов конструкции на основе антитела по настоящему изобретению дополнительно предусматривают антиоксиданты. В некоторой степени вредное окисление белков может быть предотвращено в фармацевтических составах путем поддержания надлежащих уровней кислорода и

температуры окружающей среды и избегания воздействия света. Антиоксидантные вспомогательные вещества также могут применяться для предотвращения окислительной деградации белков. К числу применимых антиоксидантов в этом отношении относятся восстанавливающие средства, поглотители кислорода/свободных радикалов и хелатирующие средства. Антиоксиданты для применения в терапевтических составах на основе белков в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно являются водорастворимыми и сохраняют свою активность в течение всего срока годности продукта. EDTA является предпочтительным антиоксидантом в соответствии с настоящим изобретением в этом отношении. Антиоксиданты могут повреждать белки. Например, восстанавливающие средства, такие как глутатион в частности, могут нарушать внутримолекулярные дисульфидные связи. Таким образом, антиоксиданты для применения в настоящем изобретении выбраны среди прочих для устранения или достаточно-го уменьшения возможности повреждения белков в составе.

Составы в соответствии с настоящим изобретением могут включать ионы металлов, которые являются белковыми кофакторами и которые необходимы для образования белковых координационных комплексов, такие как цинк, необходимый для образования определенных суспензий инсулина. Ионы металлов также могут ингибировать некоторые процессы, которые разрушают белки. Однако ионы металлов также катализируют физические и химические процессы, которые разрушают белки. Ионы магния (10-120 мМ) могут быть использованы для ингибирования изомеризации аспарагиновой кислоты до изоаспарагиновой кислоты. Ионы Ca^{+2} (до 100 мМ) могут повышать стабильность дезоксирибонуклеазы человека. Однако Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} могут дестабилизировать rhDNase. Аналогичным образом, Ca^{+2} и Sr^{+2} могут стабилизировать фактор VIII, при этом он может быть дестабилизирован ионами Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , Cu^{+2} и Fe^{+2} , и его агрегация может быть увеличена за счет ионов Al^{+2} .

Варианты осуществления составов конструкции на основе антитела по настоящему изобретению дополнительно включают применение одного или нескольких консервантов. Консерванты необходимы в разработке многодозовых составов для парентерального введения, которые включают более одного отбора из одного контейнера. Их основная функция заключается в подавлении роста микроорганизмов и обеспечении стерильности продукта в течение всего срока годности или срока применения лекарственного продукта. Традиционно используемые консерванты включают бензиловый спирт, фенол и м-крезол. Хотя консерванты давно применяются с низкомолекулярными препаратами для парентерального введения, разработка составов на основе белков, включающих консерванты, может быть сложной задачей. Консерванты практически всегда оказывают дестабилизирующее действие (агрегацию) на белки, и это стало основным фактором, ограничивающим их использование в многодозовых составах на основе белков. На сегодняшний день большинство лекарственных средств на основе белка были составлены только для однократного применения. Однако, если можно получить многодозовые составы, они имеют дополнительное преимущество, заключающееся в обеспечении удобства для пациентов и улучшении товарного состояния. Хорошим примером является гормон роста человека (hGH), в случае с которым разработка составов с добавлением консервантов привела к появлению на рынке более удобных форм выпуска в виде многодозовых шприцев-ручек. В настоящее время на рынке доступны по меньшей мере четыре таких устройства в виде шприцев-ручек, содержащих составы на основе hGH с добавлением консервантов. Norditropin (жидкость, Novo Nordisk), Nutropin AQ (жидкость, Genentech) и Genotropin (лиофилизированный--двухкамерный картридж, Pharmacia & Upjohn) содержат фенол, в то время как Somatropе (Eli Lilly) содержит м-крезол. При составлении и разработке лекарственных форм с добавлением консервантов необходимо учитывать несколько аспектов. Эффективная концентрация консерванта в лекарственном продукте должна быть оптимизирована. Для этого необходимо провести тестирование данного консерванта в лекарственной форме в диапазонах концентраций, которые обеспечивают противомикробную эффективность без нарушения стабильности белка.

Как и предполагалось, разработка жидких составов, содержащих консерванты, является более сложной задачей, чем лиофилизированных составов. Высушенные сублимацией продукты могут быть лиофилизированы без консерванта и восстановлены разбавителем, содержащим консервант, в ходе применения. Это сокращает время, в течение которого консервант контактирует с белком, значительно минимизируя связанные с этим риски для стабильности. При использовании жидких составов эффективность и стабильность консерванта должны поддерживаться в течение всего срока годности продукта (от 18 до 24 месяцев). Важно отметить, что эффективность консерванта должна быть продемонстрирована в конечном составе, содержащем активное лекарственное средство и все вспомогательные компоненты.

Описанные в данном документе конструкции на основе антител также можно составить в виде имунолипосом. "Липосома" представляет собой небольшую везикулу, состоящую из различных типов липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активного вещества, которая применима для доставки лекарственного средства млекопитающему. Компоненты липосомы обычно имеют бислойную структуру, аналогичную липидной структуре биологических мембран. Липосомы, содержащие конструкцию на основе антитела, получают с помощью способов, известных из уровня техники, таких как описанные в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); в патентах США № 4485045 и 4544545 и WO 97/38731. Липосомы с увеличенным временем циркуляции в кровотоке раскрыты в патенте США № 5013556. С помощью способа обращенно-фазового

выпаривания можно получить особенно применимые липосомы, в липидном составе которых содержатся фосфатидилхолин, холестерин и PEG-derivатизированный фосфатидилэтанолламин (PEG-PE). Липосомы экструдированы через фильтры с определенным размером пор с получением липосом желаемого диаметра. Fab'-фрагменты конструкции на основе антитела по настоящему изобретению можно конъюгировать с липосомами, как описано в Martin et al. *J. Biol. Chem.* 257: 286-288 (1982), посредством реакции дисульфидного обмена. В липосоме необязательно содержится химиотерапевтическое средство. См. Gabizon et al. *J. National Cancer Inst.* 81 (19) 1484 (1989).

После того, как фармацевтическая композиция была составлена, ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества, кристалла либо в виде обезвоженного или лиофилизированного порошка. Такие составы можно хранить либо в готовой к применению форме, либо в форме (например, лиофилизированной), которую восстанавливают перед введением.

Биологическую активность фармацевтической композиции, определенной в данном документе, можно определить, например, с помощью анализов цитотоксичности, описанных в следующих примерах, в WO 99/54440 или в Schlereth et al. (*Cancer Immunol. Immunother.* 20 (2005), 1-12). Термин "эффективность" или "эффективность *in vivo*", применяемый в данном документе, относится к ответу на терапию фармацевтической композицией по настоящему изобретению с применением, например, стандартизованных критериев ответа NCI. Успех или эффективность терапии *in vivo* с применением фармацевтической композиции по настоящему изобретению относится к эффективности композиции в отношении предполагаемой для нее задачи, т.е. способности композиции достигать требуемого эффекта, т.е. истощения патологических клеток, например, опухолевых клеток. Эффективность *in vivo* можно контролировать с помощью общепринятых стандартных способов для соответствующих нозологических форм, включая без ограничения определение количества лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, сортировку клеток с активированной флуоресценцией, забор костного мозга. В дополнение можно использовать клинико-химические параметры, специфические для конкретного заболевания, а также другие общепринятые стандартные способы. Кроме того, можно использовать компьютерную томографию, рентгеновское исследование, ядерную магнитно-резонансную томографию (например, для оценки ответа на основании критериев Национального института рака [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol.* 1999 Apr; 17(4): 1244]), позитронно-эмиссионное томографическое сканирование, подсчет количества лейкоцитов, определение лейкоцитарной формулы, сортировку клеток с активированной флуоресценцией, аспирацию костного мозга, исследования биоптатов/гистосрезов лимфатических узлов и различные клинико-химические показатели, специфические для лимфомы (например, уровень лактатдегидрогеназы), а также другие общепринятые стандартные способы.

Другой значительной проблемой в разработке лекарственных средств, таких как фармацевтическая композиция по настоящему изобретению, является прогнозируемое модулирование фармакокинетических свойств. В связи с этим можно установить фармакокинетический профиль лекарственного средства-кандидата, т.е. профиль фармакокинетических параметров, влияющих на способность конкретного лекарственного средства к лечению указанного состояния. Фармакокинетические параметры лекарственного средства, влияющие на способность лекарственного средства к лечению определенной нозологической формы, включают без ограничения время полужизни, объем распределения, метаболизм при первом прохождении через печень и степень связывания с белками сыворотки крови. На эффективность указанного лекарственного средства может влиять любой из показателей, упомянутых выше. Предусмотренной характеристикой конструкций на основе антител по настоящему изобретению, обеспеченных специфической формой Fc, является, например, наличие у них различий в фармакокинетическом поведении. Нацеливаемая конструкция на основе антитела с увеличенным временем полужизни в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно демонстрирует удивительно увеличенное время пребывания *in vivo* по сравнению с "каноническими" вариантами указанной конструкции на основе антитела, не характеризующимися НЛЕ.

"Время полужизни" означает время, когда 50% введенного лекарственного средства элиминируется посредством биологических процессов, например, метаболизма, экскреции и т.д. Под "метаболизмом при первом прохождении через печень" подразумевается подверженность лекарственного средства метаболизму после первого контакта с печенью, т.е. во время его первого прохождения через печень. "Объем распределения" означает степень удержания лекарственного средства в различных компартментах организма, таких как, например, внутриклеточное и внеклеточное пространство, ткани и органы и т.п., и распределение лекарственного средства в этих компартментах. "Степень связывания с белками сыворотки крови" означает способность лекарственного средства к взаимодействию и связыванию с белками сыворотки крови, такими как альбумин, что приводит к уменьшению или потере биологической активности лекарственного средства.

Фармакокинетические параметры также включают биодоступность, лаг-период (Tlag), Tmax, скорость абсорбции, начало действия и/или Cmax для заданного количества вводимого лекарственного

средства. "Биологическая доступность" означает количество лекарственного средства в компартменте крови. "Лаг-период" означает задержку по времени между введением лекарственного средства и его выявлением и измеримостью в крови или плазме крови. "Tmax" представляет собой время, за которое достигается максимальная концентрация лекарственного средства в крови, а "Cmax" представляет собой максимальную концентрацию в крови, которой достигает указанное лекарственное средство. На время, необходимое для достижения концентрации лекарственного средства в крови или ткани, которая требуется для биологического действия, влияют все параметры. Фармакокинетические показатели конструкций на основе биспецифических антител, проявляющих межвидовую специфичность, которые можно определить в доклиническом тестировании на животных с вовлечением приматов, отличных от шимпанзе, как указано выше, также изложены, например, в публикации Schlereth et al. (*Cancer Immunol. Immunother.* 20 (2005), 1-12).

В предпочтительном аспекте настоящего изобретения фармацевтическая композиция является стабильной в течение по меньшей мере четырех недель при приблизительно -20°C . Как очевидно из прилагающихся примеров, качество конструкции на основе антитела по настоящему изобретению по сравнению с качеством соответствующих существующему уровню техники конструкций на основе антител можно исследовать, используя различные системы. Предполагается, что эти тесты соответствуют "ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products Q5C and Specifications: Test procedures and Acceptance Criteria for Biotech Biotechnological/Biological Products Q6B", и таким образом выбраны для обеспечения профиля, указывающего на стабильность, который обеспечивает уверенность в том, что выявляются изменения в идентичности, чистоте и эффективности продукта. Является общепринятым, что термин чистота является относительным термином. Вследствие влияния гликозилирования, дезамидирования или других видов гетерогенности абсолютную чистоту биотехнологического/биологического продукта, как правило, следует оценивать с помощью более чем одного способа, а полученное значение чистоты зависит от способа. В целях испытания стабильности исследования в отношении чистоты должны фокусироваться на способах определения продуктов деградации.

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

Предпочтительный состав для конструкции на основе антитела в виде фармацевтической композиции может, например, содержать компоненты состава, описанные ниже.

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

Другие примеры оценки стабильности конструкции на основе антитела по настоящему изобретению в форме фармацевтической композиции приведены в прилагающихся примерах 4-12. В этих примерах варианты осуществления конструкций на основе антител по настоящему изобретению исследуют в отношении различных стрессовых условий в различных фармацевтических составах, а результаты сравнивают с другими увеличивающими время полужизни (HLE) форматами конструкции на основе биспецифической антитела, рекрутирующей T-клетки, которые известны из уровня техники. В целом предусматривается, что конструкции на основе антител, обеспеченные специфической формой Fc-домена согласно настоящему изобретению обычно более стабильны в широком диапазоне стрессовых условий, таких как температурный и световой стресс, по сравнению с конструкциями на основе антител, представленными с различными форматами HLE и без них (например, "канонические" конструкции на основе антител). Указанная температурная стабильность может относиться как к пониженной (ниже комнатной температуры, включая замораживание), так и к повышенной (выше комнатной температуры, включая значения температуры до или выше температуры тела) температуре. Специалисту в данной области техники понятно, что такая улучшенная стабильность в отношении стресса, которого трудно избежать при практической реализации в клинических условиях, делает конструкцию на основе антитела более безопасной, так как при практической реализации в клинических условиях возникнет меньше продуктов деградации. Соответственно, указанная повышенная стабильность означает повышенную безопасность.

В одном варианте осуществления предусмотрена конструкция на основе антитела по настоящему изобретению или конструкция на основе антитела, полученная в соответствии со способом по настоящему изобретению, для применения в предупреждении, лечении или уменьшении интенсивности рака, коррелирующего с экспрессией MUC17 или сверхэкспрессией MUC17, такого как рак предстательной железы.

Описанные в данном документе составы применимы в качестве фармацевтических композиций в лечении, уменьшении тяжести и/или предупреждении описанного в данном документе патологического состояния у нуждающегося в этом пациента. Термин "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическому или превентивным мерам. Лечение включает применение или введение состава в организм, выделенную ткань или клетку пациента, у которого имеется заболевание/нарушение, симптом заболевания/нарушения или предрасположенность к заболеванию/нарушению, с целью лечения, излечения, смягчения, облегчения, изменения, исправления, уменьшения тяжести, улучшения или воз-

действия на заболевание, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию.

Термин "уменьшение интенсивности", применяемый в данном документе, относится к улучшению болезненного состояния пациента, имеющего заболевание, как указано в данном документе ниже, путем введения конструкции на основе антитела согласно настоящему изобретению нуждающемуся в этом субъекту. Такое улучшение может также рассматриваться как замедление или остановка прогрессирующего заболевания пациента. Термин "предусматривает", применяемый в данном документе, означает предотвращение возникновения или повторного возникновения у пациента, имеющего опухоль, или рак, или метастатический рак, как указано в данном документе ниже, путем введения конструкции на основе антитела согласно настоящему изобретению нуждающемуся в этом субъекту.

Термин "заболевание" относится к любому состоянию, для которого будет полезно лечение с помощью конструкции на основе антитела или фармацевтической композиции, описанных в данном документе. Он включает хронические и острые нарушения или заболевания, включая те патологические состояния, которые являются причиной предрасположенности млекопитающего к рассматриваемому заболеванию.

"Новообразование" представляет собой аномальный рост ткани, как правило, но не всегда, образующий опухолевую массу. Когда также образуется масса, ее обычно называют "опухолью". Новообразования или опухоли могут быть доброкачественными, потенциально злокачественными (предраковыми) или злокачественными. Злокачественные новообразования обычно называют раком. Они обычно инвазируют и разрушают окружающую ткань и могут образовывать метастазы, т.е. они распространяются в другие части, ткани или органы тела. Следовательно, термин "метастатический рак" охватывает метастазы в другие ткани или органы, отличные от происхождения опухоли. Лимфомы и лейкозы являются лимфоидными новообразованиями. Для целей настоящего изобретения они также охватываются терминами "опухоль" или "рак".

Термином "вирусное заболевание" описываются заболевания, которые являются результатом вирусной инфекции у субъекта.

Термином "иммунологическое нарушение", применяемым в данном документе, описываются в соответствии с общим определением этого термина иммунологические нарушения, такие как аутоиммунные заболевания, гиперчувствительность, иммунодефициты.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусматривается способ лечения или уменьшения интенсивности рака, коррелирующего с экспрессией MUC17 или сверхэкспрессией MUC17, включающий стадию введения субъекту, нуждающемуся в этом, конструкции на основе антитела по настоящему изобретению или конструкции на основе антитела, полученной в соответствии со способом по настоящему изобретению. Биспецифическое однопочечное антитело к MUC17хCD3 является, в частности, преимущественным для терапии рака, предпочтительно солидных опухолей, более предпочтительно карцином и рака предстательной железы.

Термины "нуждающийся в лечении субъект" или "нуждающийся в лечении" включает тех, у кого уже есть нарушение, а также тех, у кого нарушение должно быть предупреждено. Нуждающийся субъект или "пациент" включает человека или других субъектов-млекопитающих, которые получают либо профилактическое, либо терапевтическое лечение.

Конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению, как правило, конструируют для конкретных путей и способов введения, для конкретных дозировок и частоты введения, для конкретных средств лечения конкретных заболеваний, с определенными диапазонами биодоступности и способности сохранения в организме, помимо прочего. Материалы для композиции предпочтительно составляют в концентрациях, которые являются приемлемыми для данного участка введения.

Таким образом, составы и композиции могут быть получены в соответствии с настоящим изобретением для доставки любым подходящим путем введения. В контексте настоящего изобретения пути введения включают без ограничения:

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

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

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

Фармацевтические композиции и конструкция на основе антитела по настоящему изобретению в особенности применимы для парентерального введения, например, подкожной или внутривенной доставки, например, путем инъекции, такой как болюсная инъекция, или путем инфузии, такой как непрерывная инфузия. Фармацевтические композиции могут быть введены с помощью устройств медицинского назначения. Примеры устройств медицинского назначения для введения фармацевтических композиций описаны в патентах США № 4475196; 4439196; 4447224; 4447233; 4486194; 4487603; 4596556;

4790824; 4941880; 5064413; 5312335; 5312335; 5383851 и 5399163.

В частности, в настоящем изобретении предусмотрено непрерывное введение подходящей композиции. В качестве неограничивающего примера непрерывное или по сути непрерывное, т.е. продолжительное введение можно осуществлять с помощью небольшой насосной системы, носимой пациентом, для дозирования подачи терапевтического средства в организм пациента. Фармацевтическую композицию, содержащую конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению, можно вводить, используя указанные насосные системы. В целом такие насосные системы известны из уровня техники, а их работа обычно основана на периодической замене картриджей, содержащих подлежащее инфузии терапевтическое средство. Замена картриджа в такой насосной системе влечет за собой временное прерывание или какое-либо иное прерывание потока терапевтического средства в организм пациента. В таком случае фаза введения перед заменой кассеты и фаза введения после замены кассеты по-прежнему будут подпадать в определение фармацевтических средств и способов по настоящему изобретению, составляющих вместе одно "непрерывное введение" такого терапевтического средства.

Продолжительное или непрерывное введение конструкций на основе антител по настоящему изобретению может быть внутривенным или подкожным, и осуществляться посредством устройства для доставки жидкости или небольшой насосной системы, включающей механизм подачи жидкости для подачи жидкости из резервуара и приводной механизм для приведения в действие механизма подачи. Насосные системы для подкожного введения могут включать иглу или канюлю для проникновения через кожу пациента и доставки подходящей композиции в организм пациента. Указанные насосные системы могут быть напрямую прикреплены или присоединены к коже пациента независимо от расположения вен, артерий и кровяных сосудов, за счет чего обеспечивается непосредственный контакт между насосной системой и кожей пациента. Насосная система может быть присоединена к коже пациента в течение от 24 ч до нескольких суток. Насосная система может иметь небольшой размер с резервуаром для небольших объемов. В качестве неограничивающего примера объем резервуара для введения подходящей фармацевтической композиции может составлять от 0,1 до 50 мл.

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

Если фармацевтическая композиция была лиофилизована, то лиофилизованный материал сначала восстанавливают в соответствующей жидкости перед введением. Лиофилизованный материал можно восстанавливать, например, в бактериостатической воде для инъекций (BWFI), физиологическом солевом растворе, фосфатно-солевом буферном растворе (PSB) или в том самом составе, в котором белок находился перед лиофилизацией.

Композиции по настоящему изобретению можно вводить субъекту в подходящей дозе, которую можно определить, например, с помощью исследований с повышением дозы путем введения возрастающих доз описанной в данном документе конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, демонстрирующей межвидовую специфичность, отличным от шимпанзе приматам, например, макакам. Как указано выше, описанную в данном документе конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению, демонстрирующую межвидовую специфичность, преимущественно можно использовать в идентичной форме в доклинических исследованиях на отличных от шимпанзе приматах и в качестве лекарственного средства на людях. Режим дозирования определяется лечащим врачом и клиническими факторами. Как хорошо известно в области медицины, дозировки для любого пациента зависят от многих факторов, в том числе от размеров тела, площади поверхности тела, возраста пациента, конкретного соединения, подлежащего введению, пола, времени и пути введения, общего состояния здоровья и других лекарственных средств, вводимых совместно.

Термин "эффективная доза" или "эффективная дозировка" определяется как количество, достаточное для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта. Термин "терапевтически эффективная доза" определяется как количество, достаточное для излечения или по меньшей мере частичного прерывания заболевания и его осложнений у пациента, который уже страдает заболеванием. Количества или дозы, эффективные для этого применения, будут зависеть от состояния, подлежащего лечению (показания), доставляемой конструкции на основе антитела, терапевтического контекста и целей, тяжести заболевания, предшествующей терапии, истории болезни пациента и его ответа на терапевтическое средство, пути введения, размера (веса тела, поверхности тела или размера органа) и/или состояния (возраста и общего состояния здоровья) пациента и общего состояния собственной иммунной системы пациента. Надлежащую дозу можно корректировать в соответствии с решением лечащего врача так, чтобы ее можно было вводить пациенту за один раз или посредством серии введений и с целью по-

лучения оптимального терапевтического эффекта.

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

Терапевтически эффективное количество конструкции на основе антитела по настоящему изобретению предпочтительно приводит к снижению тяжести симптомов заболевания, повышению частоты или длительности бессимптомных периодов или предупреждению нарушений или недееспособности вследствие поражения заболеванием. Для лечения заболеваний, коррелирующих с экспрессией MUC17, как описано в данном документе выше, терапевтически эффективное количество конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, в данном случае конструкции на основе антитела к MUC17/CD3, предпочтительно ингибирует рост клетки или рост опухоли на по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80% или по меньшей мере приблизительно 90% относительно пациентов, не подвергавшихся лечению. Способность соединения ингибировать рост опухоли можно оценить в животной модели, прогностической в отношении эффективности.

Фармацевтическую композицию можно вводить в виде единственного терапевтического средства или в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами, такими как противораковые средства терапии, в случае необходимости, например, другими белковыми и небелковыми лекарственными средствами. Эти лекарственные средства можно вводить одновременно с композицией, содержащей определенную в данном документе конструкцию на основе антитела по настоящему изобретению, или отдельно, до или после введения указанной конструкции на основе антитела в определенные временные интервалы и в определенных дозах.

Термин "эффективная и нетоксичная доза", применяемый в данном документе, относится к переносимой дозе конструкции на основе антитела по настоящему изобретению, достаточно высокой для того, чтобы вызвать истощение патологических клеток, устранение опухоли, уменьшение размеров опухоли или стабилизацию заболевания без или по сути без значительных токсических эффектов. Такие эффективные и нетоксичные дозы можно определить, например, с помощью исследований с повышением дозы, описанных в данной области техники, и они должны быть ниже дозы, индуцирующей серьезные нежелательные побочные явления (дозолимитирующая токсичность, DLT).

Термин "токсичность", применяемый в данном документе, относится к токсическим эффектам лекарственного средства, проявляющимся в виде нежелательных явлений или серьезных нежелательных явлений. Эти побочные явления могут относиться к отсутствию переносимости лекарственного средства в целом и/или отсутствию локальной переносимости после введения. Токсичность также может включать тератогенное или карциногенное действие, вызываемое лекарственным средством.

Термин "безопасность", "безопасность in vivo" или "переносимость", применяемый в данном документе, определяет введение лекарственного средства без индукции серьезных нежелательных явлений непосредственно после введения (местная переносимость) и в течение более длительного периода применения лекарственного средства. "Безопасность", "безопасность in vivo" или "переносимость" можно оценивать, например, через равные промежутки времени в ходе периода лечения и последующего наблюдения. Измерения включают клиническую оценку, например, проявления во внутренних органах, и исследование отклонений от нормальных лабораторных показателей. Можно проводить клиническую оценку и записывать/зашифровывать отклонения от нормальных результатов в соответствии со стандартами NCI-CTC и/или MedDRA. Проявления во внутренних органах могут включать такие критерии, как аллергия/иммунология, кровь/костный мозг, сердечная аритмия, коагуляция и т.п., как описано, например, в общих терминологических критериях нежелательных явлений v3.0 (CTCAE). Лабораторные параметры, которые можно исследовать, включают, например, гематологические показатели, клиническую химию, профиль коагуляции и анализ мочи, а также исследование других жидкостей организма, таких как сыворотка крови, плазма крови, лимфатическая или спинномозговая жидкость, ликвор и т.п.

Таким образом, безопасность можно оценить, например, посредством физического осмотра, методик визуализации (т.е. ультразвукового исследования, рентгеновского исследования, КТ-сканирования, магнито-резонансной томографии (МРТ), других измерений с помощью технических устройств (т.е. электрокардиограммы), показателей жизнедеятельности, путем измерения лабораторных параметров и записи нежелательных явлений.

Например, нежелательные явления у отличных от шимпанзе приматов в вариантах применения и способах по настоящему изобретению можно исследовать с помощью гистопатологических и/или гистохимических способов.

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

И наконец, в настоящем изобретении предусмотрен набор, содержащий конструкцию на основе ан-

титела по настоящему изобретению или полученную в соответствии со способом по настоящему изобретению, фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, полинуклеотид по настоящему изобретению, вектор по настоящему изобретению и/или клетку-хозяина по настоящему изобретению.

В контексте настоящего изобретения термин "набор" означает два или более компонентов, один из которых соответствует конструкции на основе антитела, фармацевтической композиции, вектору или клетке-хозяину по настоящему изобретению, упакованных вместе в контейнере, реципиенте или иным образом. Следовательно, набор может быть описан как набор продуктов и/или инструментов, достаточных для достижения определенной цели, которые могут продаваться как единое целое.

Набор может содержать одну или несколько емкостей (таких как флаконы, ампулы, контейнеры, шприцы, бутылки, пакеты) любых подходящих формы, размера и материала (предпочтительно, например, из водонепроницаемого пластика или стекла), содержащего конструкцию на основе антитела или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению в подходящей дозировке для введения (см. выше). Набор может дополнительно содержать инструкции по применению (например, в виде листовки или инструкции-брошюры), средства для введения инструкции на основе антитела по настоящему изобретению, такие как шприц, насос, инфузионная система и им подобные, средства для восстановления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению и/или средство для разбавления конструкции на основе антитела по настоящему изобретению.

В настоящем изобретении также предусмотрены наборы с устройством для однократного введения. Набор по настоящему изобретению также может содержать первый контейнер, содержащий высушенную/лиофилизированную конструкцию на основе антитела, и второй контейнер, содержащий водный состав. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрены наборы, содержащие однокамерные и многокамерные предварительно заполненные шприцы (например, шприцы с жидким или лиофилизированным содержимым).

Отмечено, что используемые в данном документе формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если из контекста явно не следует иное. Таким образом, например, ссылка на "реагент" включает один или несколько таких различных реагентов, а ссылка на "способ" включает ссылку на эквивалентные стадии и способы, известные специалистам в данной области техники, которые можно модифицировать или использовать вместо способов, описанных в данном документе.

Если не указано иное, то термин "по меньшей мере", предшествующий последовательностям элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в серии. Специалисты в данной области техники примут во внимание или будут способны определить путем проведения только обычных экспериментов многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения, описанных в данном документе. Подразумевается, что такие эквиваленты включены в настоящее изобретение.

Выражение "и/или", применяемое в любой части в данном документе, включает значения "и", "или" и "все элементы или любую другую их комбинацию, объединенные указанным выражением".

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

Термин "менее чем" или "более чем" включает конкретное число. Например, менее чем 20 означает меньше или равно. Аналогично более чем или больше чем означает более или равно или больше или равно соответственно.

Во всем настоящем описании и следующей за ним формуле изобретения, если по контексту не требуется иное, слово "содержать" и его варианты, такие как "содержит" и "содержащий", будут понимать как подразумевающие включение указанного целого числа или стадии, или группы целых чисел или стадий, но не исключение какого-либо другого целого числа или стадии, или группы целых чисел или стадий. Термин "предусматривающий", при использовании в данном документе, можно заменить терминами "содержащий" или "включающий", или иногда при использовании в данном документе термином "имеющий".

Применяемый в данном документе "состоящий из" исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не определенные в элементе пункта формулы изобретения.

В контексте данного документа выражение "состоящий, по сути, из" не исключает материалы или стадии, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики заявляемого объекта.

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

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

Все публикации и патенты, упоминаемые по всему тексту настоящего описания (включая все патенты, заявки на патенты, научные публикации, технические характеристики и инструкции от произво-

дителя и т.п.) выше или ниже, настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте. Все изложенное в данном документе не следует воспринимать как признание того, что данное изобретение не имеет права противопоставлять такое описание на основании более раннего изобретения. В тех случаях, когда включенный посредством ссылки материал противоречит или не согласуется с данным описанием, это описание имеет приоритет относительно любого такого материала.

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

Примеры

Пример 1. Оценка экспрессии MUC17 клеточной поверхности.

Уровни MUC17 клеточной поверхности определяли с помощью проточной цитометрии с применением QIFkit (Dako). Адгезивные клетки отделяли с применением неферментативного буфера для диссоциации клеток (Cellstripper, Coining) и затем окрашивали с помощью антитела 4C11 к MUC17. Антитело 4C11 представляет собой моноклональное антитело, образованное при иммунизации мышей B6 ДНК-конструкцией, охватывающей участок EGF-SEA-EGF MUC17 (aa 4131-4493). MUC17 выявляли с помощью инкубации со вторичным антителом, конъюгированным с FITC и анализировали с помощью проточной цитометрии. Относительную связывающую способность антитела определяли с помощью QIFkit (Dako) с применением образцов гранулы, обеспеченных в наборе в качестве стандарта. Результаты изображены на фиг. 3 (А) уровни экспрессии гена MUC17 в линиях клеток рака определяли с помощью количественной полимеразной цепной реакцией (qPCR) с применением способов и зондов от Applied Biosystems/Thermo Fisher. Выделяли РНК из линий клеток рака и затем транскрибировали в cDNA. cDNA MUC17 амплифицировали с зондами, специфическими в отношении MUC17, с применением qPCR. Уровни экспрессии гена MUC17 были нормализованы по уровням для конститутивно экспрессируемого гена, таких как изображенные на фиг. 3 (В).

Пример 2. Оценка эффективности *in vitro* конструкций на основе биспецифических антител к MUC17.

Клеточную активность конструкций на основе антител MUC17 HLE оценивали в анализах зависимой от Т-клеток цитотоксичности (TDCC). Эффекторные клетки получали из коммерческих источников, таких как AllCells или Serpheus Biosciences, Inc. Пан-Т-клетки человека, РВМС человека или РВМС от яванского макака инкубировали в соотношении 10:1 или 5:1 с клетками-мишенями, экспрессирующими MUC17 человека или яванского макака в присутствии диапазона дозы конструкций на основе антител. После 48 ч инкубации клеточную цитотоксичность оценивали с применением люминесцентного анализа (клетка T-glo или Steady-glo (Promega)) или визуализации высокого разрешения (Cellomics ArrayScan) в качестве считываемого параметра клеточной цитотоксичности. Результаты изображены на фиг. 4 и 5.

Пример 3. Исследование с ксенотрансплантом для оценки эффективности *in vivo* конструкции на основе биспецифического антитела к MUC17.

Целью исследования с ксенотрансплантом была оценка противоопухолевой активности конструкции на основе биспецифического антитела к MUC17/CD3 с увеличенным временем полужизни после внутривенного введения в подкожной модели ксенотрансплантата GSU-luc рака желудка человека у самок мышей NOD/SCID.

Получение клеток-мишеней и эффекторных клеток для инокуляции.

Клетки-мишени.

Клетки GSU карциномы желудка человека, трансфектированные лентивирусным вектором LV417-Luc, для стабильной экспрессии люциферазы светлячков (GSU-luc), собирали, центрифугировали, промывали с помощью холодного DPBS, подсчитывали и доводили до концентрации 5×10^7 клеток/мл. Всего инъецировали подкожно 5×10^6 клеток/мышь (SC) в правую заднюю боковую часть самок мышей NOD/SCID (поставщик: Envigo) в конечном объеме 100 мкл.

Эффекторные клетки.

Т-клетки человека выделяли из свежей крови здоровых доноров (№ 0801), обогащали CD3+ Т-клетками с применением набора для выделения пан-Т-клетки (№ 130-096-535) и активировали и размножали *in vitro* с применением набора для активации/размножения Т-клетки человека (№ 130-091-441, оба от Miltenyi Biotec) в соответствии с инструкциями производителя.

В день инъецирования Т-клетки подсчитывали, выделяли из гранул и промывали 2х холодным DPBS. Количество клеток доводили до 1×10^8 клеток/мл и хранили на льде до инъекции. Всего 2×10^7 клеток/мышь инъецировали в брюшную полость (IP) в конечном объеме 200 мкл. Клетки хранили на льде до инъекции.

Схема эксперимента.

Животные получали конструкцию на основе биспецифического антитела к MUC17 или контрольное соединение посредством внутривенной (IV) болюсной инъекции (в хвостовую вену). Мышей обрабатывали в соответствии с табл. 4.

Таблица 4
Схема исследования при изучении эффективности

Группа	Мышь/ Группа	Клетки- мишени/	Эффекторные клетки/	Обработка	RoA	Уровень дозы	Объем дозы	Дни обра-
		мышь (SC)	мышь (IP)			(мг/кг)	(мл)	ботки
1	5	5×10 ⁶ GSU-luc	-	Контрольное соединение	IV	0	0,1	12, 19
2	10	5×10 ⁶ GSU-luc	2×10 ⁷ CD3 ⁺	Контрольное соединение	IV	0	0,1	12, 19
3	10	5×10 ⁶ GSU-luc	2×10 ⁷ CD3 ⁺	Биспецифи- ческая конструкция к MUC17	IV	2,5	0,1	12, 19, 26
4	10	5×10 ⁶ GSU-luc	2×10 ⁷ CD3 ⁺	Биспецифи- ческая конструкция к MUC17	IV	0,25	0,1	12, 19, 26
5	10	5×10 ⁶ GSU-luc	2×10 ⁷ CD3 ⁺	Биспецифи- ческая конструкция к MUC17	IV	0,025	0,1	12, 19, 26
	55	Дополнительные животные (остаточные) для обеспечения равного объема опухоли при начале обработки						
Σ	100	Животные в начале исследования						

Последовательность исследования.

День 1. Подкожная инъекция опухолевых клеток (GSU-luc) в правую заднюю боковую часть самок мышей NOD/SCID (см. выше). Возраст животных составлял 6 недель в начале исследования.

День 7. Обработка антителом к асиало.

Для истощения оставшихся клеток NK/активности клеток NK мышей обрабатывали однократной дозой поликлонального (антитело кролика к Ig мыши) антитела к асиало-GM1. Антитело к асиало-GM1 восстанавливали в соответствии с инструкцией производителя и 50 мкл разбавленной H₂O 1:2,5 дозы инъецировали IV в латеральную хвостовую вену.

День 8. Инъекция CD3⁺ Т-клеток в брюшную полость мышей (см. выше).

Дни 11, 18 и 25: блокирование FcR.

Fc-участок тестируемого соединения подвергали мутации для предотвращения связывания с Fcγ-рецепторами. Однако, поскольку у мышей NOD/Scid отсутствуют В-клетки, то это приводит к низким уровням иммуноглобулина, блокирование FcR проводили во избежание потенциального уменьшения количества CD3⁺ эффекторных клеток посредством антитело-зависимой цитотоксичности, опосредованной клетками. В день 11, 18 и 25 мыши получали смесь антитела 2,4G2 к FcγR (8 мг/кг) и Kiovig (400 мг/кг) посредством внутрибрюшинной болюсной инъекции в конечном объеме 200 мкл на мышью на инъекцию.

Дни 12, 19 и 26: обработка тестируемым или контрольным соединением (см. табл. 4).

Животные получали тестируемое соединение (конструкция на основе биспецифического антитела к MUC17/CD3) или контрольное соединение (среда-носитель) посредством внутривенной (IV) болюсной инъекции в латеральную хвостовую вену в дни 12, 19 и 26 в соответствии с табл. 4. Объем дозы поддерживали постоянным, всего 100 мкл на мышью на инъекцию.

Тестируемое соединение было составлено в 10 mM L-глутаминовой кислоты, 9% (вес./об.) сахаразы, 0,01% (вес./об.) PS80; pH 4,2 при концентрации исходного раствора 1,04 мг/мл и разбавлено в среде-носителе (25 mM моногидрохлорид L-лизина, 0,002% (вес./об.) полисорбат 80 в 0,9% (вес./об.) хлориде натрия pH 7,0) в соответствии с последним определенным средним весом тела (BW) группы. Концентрацию дозы (с) рассчитывали с применением формулы:

$$C \left[\frac{\text{мкг}}{\text{мл}} \right] = \frac{\text{доза} \left[\frac{\text{мкг}}{\text{кг}} \right] \times \text{средний BW} [\text{кг}]}{\text{объем дозы} [\text{мл}]}$$

День 33. Конец исследования.

Экспериментальные изучения и расчеты.

Во время хода исследования за всеми животными ежедневно наблюдали для оценки общего внешнего вида, активности, поведения и выживаемости. Все результаты и комментарии были отмечены в соответствующем листе в документации исследования. Значения веса тела определяли 3 раза в неделю в ходе исследования. Прогрессирование роста опухоли определяли посредством измерения высоты и ширины опухоли с применением наружного штангенциркуля. Рост опухоли определяли 3 раза в неделю и объемы опухоли (TV) рассчитывали с применением формулы:

$$TV = \frac{\text{высота} \times \text{ширина}^2}{2}$$

где ширина определена как меньшее значение и высота определена как большее значение из двух измерений.

Все измеренные исходные данные загружали в компьютер и автоматически импортировали в программное обеспечение VIVO Manager для дополнительной обработки данных. Значения, не рассчитанные программой VIVO Calculations, рассчитывали с применением расчетного документа-таблицы программы MS Excel или GraphPad Prism для Windows.

Графические результаты представлены на фиг. 6 в виде средних значений в группе \pm стандартная погрешность среднего. Данные анализировали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и отличия в экспериментальных результатах для роста опухоли оценивали с помощью апостериорного критерия Даннетта для сравнения с контрольной группой 2.

Относительный объем опухоли (RTV) рассчитывали путем деления среднего объема опухоли в группе в день n на средний объем опухоли в группе в день перед началом обработки (день 11).

Ингибирование роста опухоли количественно определяли в день 20, последний день, когда все животные в контрольной группе были живы, в соответствии с формулой:

$$\text{Ингибирование роста опухоли} [\%] = 100 - \left(\frac{\text{средний объем опухоли в группе обработки} [\text{мм}^3]}{\text{средний объем опухоли в контрольной группе} [\text{мм}^3]} \times 100 \right)$$

Результаты.

Внутривенная обработка мышей, несущих опухоль GSU-luc, конструкцией на основе биспецифического антитела к MUC17/CD3 (тестируемое соединение, SEQ ID NO: 186) привела к статистически значимому и зависимому от дозы ингибированию роста опухоли по сравнению с контрольной группой 2, обработанной средой-носителем. После начала обработки в день 12 значения $p < 0,01$ (при 0,25 мг/кг) или $p < 0,001$ (при 2,5 мг/кг) достигались в дни 18 и 20. Поскольку большинство животных (6/10) в контрольной группе должны быть умерщвлены, не проводили статистического анализа после дня 20. Ингибирование роста опухоли, наблюдаемое в день 20, составляло 24% (0,025 мг/кг), 58% (0,25 мг/кг) и 77% (2,5 мг/кг). Сравнение относительных объемов опухоли (RTV) в день 20 показало, что в то время как опухоли, растущие у мышей, обработанных средой-носителем, характеризовались в среднем в 4,2 раза большим объемом относительно дня перед началом обработки, RTV в группах, обработанных тестируемым соединением, был в 3,4 (0,025 мг/кг), 2,4 (0,25 мг/кг) и 1,0 (2,5 мг/кг) раза больше. После обработки при 2,5 мг/кг RTV составлял $< 2,0$ до дня 29.

Сравнение двух контрольных групп, обработанных средой-носителем, показало, что T-клетки не повлияли на рост клеток GSU-luc в отсутствие тестируемого соединения. Тестируемое соединение хорошо переносилось и побочные явления, связанные с лекарственным средством, не ожидалось и не наблюдались, поскольку мышь не является подходящим видом.

В конечном итоге внутривенное введение конструкций на основе биспецифических антител в соответствии с настоящим изобретением (тестируемое соединение SEQ ID NO: 186) при 2,5 или 0,25 мг/кг привело к статистически значимому и зависимому от дозы ингибированию роста подкожных опухолей GSU-luc у самок мышей NOD/Scid.

Пример 4. Экспериментальное токсикологическое исследование на яванских макаках.

Конструкцию на основе антитела HLE BiTE к MUC17 (SEQ ID NO: 186, конструкция 8-B7) оценивали в экспериментальном токсикологическом исследовании на яванских макаках. Трех обезьянам вводили либо 100 мг/кг, либо 1000 мг/кг конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 посредством внутривенной инъекции в день 1 и день 8 исследования. Конструкция на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 (SEQ ID NO: 186) хорошо переносилась при обеих дозах без связанных клинических признаков или изменений в весе тела. Регистрировали временные увеличения температуры тела при 100 мг/кг и 1000 мг/кг. Наблюдали некоторые признаки активности конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 (перераспределение лимфоцитов, повышенные уровни нейтрофилов и моноцитов, повышенный уровень с-реактивного белка, небольшое повышение уровня цитокинов) в образцах крови от обезьян, обрабатываемых конструкцией на основе биспецифиче-

ского антитела с scFc к MUC17. Хотя иммуногистохимическое исследование подтвердило экспрессию MUC17 на апикальной поверхности образцов тонкой кишки от обезьян, оцененную в данном экспериментальном токсикологическом исследовании, не обнаружили гистопатологических изменений в тканях, экспрессирующих MUC17.

Токсикокинетические параметры конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 у яванского макака.

Токсикокинетические параметры конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 (SEQ ID NO: 186) оценивали в образцах крови, взятых у обезьян, оцениваемых в экспериментальном токсикологическом исследовании. Образцы крови собирали до введения дозы и через 0,083, 4, 8, 24, 48, 96 и 168 ч после каждого введения дозы. Концентрацию конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 в сыворотке крови определяли посредством иммунологического анализа с применением рутенированного mAb мыши к Fc IgG 1.35.1 человека, направленного в отношении Fc-фрагмента, для обнаружения конструкции. Уровни конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 в сыворотке крови определяли во все моменты времени, анализированные после введения первой дозы. Данные были сопоставлены с двухкомпонентной моделью. На фиг. 8 (B) показаны отдельные данные (точки) и среднее значение (линия). Оценивали несколько фармакокинетических параметров, включая системное выведение (CL), внутриккомпаратментное выведение (Q), объем сыворотки крови/объем центрального компартмента (V_p), объем ткани/объем ткани компартмента (V_t), конечное время полужизни ($t_{1/2}$), и для второй дозы 1000 мкг/кг - среднюю максимальную концентрацию дозы (C_{max}) и область под кривой зависимости концентрации в сыворотке крови от времени (AUC_{inf}).

Пример 5. Анализы цитотоксичности, зависимой от Т-клеток, в нормальных клетках кишечника.

Для дополнительной проверки идеи от том, что локализация MUC17 на апикальной поверхности нормальных клеток кишечника человека и яванского макака недоступна для цитотоксической активности конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 (SEQ ID NO: 186), экспрессия MUC17 и активность конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 оценивалась в нормальных клетках *in vitro*. Экспрессия MUC17 клеточной поверхности оценивали с помощью флуоресцентно-активируемой сортировки клеток. Цитотоксическая активность конструкции на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 оценивали в анализах цитотоксичности, зависимой от Т-клеток (TDCC), где конструкция на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 инкубировалась с MUC17-положительными клетками-мишенями и эффекторными клетками человека или обезьяны (т.е. Т-клетками или мононуклеарными клетками периферической крови), и затем оценивалась жизнеспособность клеток. Такие эксперименты изначально тестируются с применением стандартной двумерной культуры клеток. Однако с целью лучшего наблюдения локализации MUC17 на апикальной поверхности, нормальные клетки культивируются таким образом, чтобы поддерживать полярность эпителиальной клетки, таким как рост на внеклеточном матриксе или в органоподобной культуре. Конструкция на основе биспецифического антитела с scFc к MUC17 не показала значительного увеличения TDCC по отношению к нормальным, т.е. отличным от раковых, клеткам кишечника.

Таблица 5

Таблица последовательностей

SEQ ID NO:	Обозначение	Источник		Последовательность
1.	Линкер (G4S)	Искусственный	aa	GGGGGS
2.	Линкер (G4S)2	Искусственный	aa	GGGGSGGGGS
3.	Линкер (G4S)3	Искусственный	aa	GGGGSGGGSGGGGS
4.	Линкер (G4S)4	Искусственный	aa	GGGGSGGGSGGGSGGGGS
5.	Линкер (G4S)5	Искусственный	aa	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
6.	Линкер (G4S)6	Искусственный	aa	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
7.	Линкер (G4S)7	Искусственный	aa	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
8.	Линкер (G4S)8	Искусственный	aa	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
9.	Пептидный линкер	Искусственный	aa	PGGGGGS
10.	Пептидный линкер	Искусственный	aa	PGGDGS
11.	Пептидный	Искусственный	aa	SGGGGGS

	линкер			
12.	Пептидный линкер	Искусственный	aa	GGGG
13.	Связывающий CD3ε VL	Искусственный	aa	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTSGSSTGA VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFK LAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
14.	Связывающий CD3ε VH	Искусственный	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTA YLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YVSWWAYWQGGLTVTVSS
15.	Связывающий CD3ε scFv	Искусственный	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTA YLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YVSWWAYWQGGLTVTVSSGGGGSGG GGGGGGSQTVVTQEPSTLVSPGGTVTL TCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG GGTKLTVL
16.	Гекса-гистидиновая метка	Искусственный	aa	HHHHHH
17.	Fc-мономер-1 +c/-g	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

18.	Fc-мономер-2 +c/-g/delGK	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSP
19.	Fc-мономер-3 -c/+g	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
20.	Fc-мономер-4 -c/+g/delGK	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSP
21.	Fc-мономер-5 -c/-g	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ

				KSLSLSPGK
22.	Fc-мономер-6 -c/-g/delGK	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSP
23.	Fc-мономер-7 +c/+g	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
24.	Fc-мономер-8 +c/+g/delGK	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSP
25.	scFc-1	Искусственный	aa	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV

			DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGG GGGGSGGGGSDKHTHTCPPCPAPPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
26.	scFc-2	Искусственный aa	DKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDKHTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDG S FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSP
27.	scFc-3	Искусственный aa	DKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

			<p>GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSDKTHTCPPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
28.	scFc-4	Искусственный aa	<p>DKTHTCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGSDKTHTCPPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSP</p>
29.	scFc-5	Искусственный aa	<p>DKTHTCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE</p>

				<p>MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLSDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGG GGGGSGGGGSDKTHTCPAPPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
30.	scFc-6	Искусственный	aa	<p>DKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLSDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGG GGGGSGGGGSDKTHTCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSP</p>
31.	scFc-7	Искусственный	aa	<p>DKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL</p>

				<p>PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGG GSGGGSGGGGSDKHTCPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPY SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
32.	scFc-8	Искусственный	aa	<p>DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGG GGGGSGGGGSDKHTCPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPY DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSP</p>
33.	CDR1 VH MU 92- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
34.	CDR2 VH MU 92-	Искусственный	aa	VISFEKSNKYYASSVKG

	G6 CC x I2C0-scFc			
35.	CDR3 VH MU 92- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
36.	CDR1 VL MU 92- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSVNRYLA
37.	CDR2 VL MU 92- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GASNRAT
38.	CDR3 VL MU 92- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFA
39.	VH MU 92-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISFE GSNKYYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGT LVTVSS
40.	VL MU 92-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTL S LSPGERATL SCRASQSV NRYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASNRAT GIPDRFTGSGSGTDFTLISRLEPEDFAV YFCHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
41.	scFv MU 92-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISFE GSNKYYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTL S LSPGERATL SCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
42.	Биспецифическая молекула MU 92- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISFE GSNKYYASSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTL S LSPGERATL SCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASNRATG

			<p>IPDRFTGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL</p>
43.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 92-G6 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISFE GSNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</p>

				YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSG GGGSGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
44.	CDR1 VH MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SFGMH
45.	CDR2 VH MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VIWFSGSNKYIAEAVKG
46.	CDR3 VH MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
47.	CDR1 VL MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	RANQAINRYLA
48.	CDR2 VL MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GASSRAT
49.	CDR3 VL MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
50.	VH MU 92-C12 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF GSNKYIAEAVKGRFTISRDNKNTLYL

				QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSS
51.	VL MU 92-C12 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANQAI NRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVY YCHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
52.	scFv MU 92-C12 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWFS GSNKYYAEAVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANQAIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
53.	Биспецифическая молекула MU 92- C12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWFS GSNKYYAEAVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANQAIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL
54.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF

	молекула с HLE MU 92-C12 CC x I2C0-scFc		TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWFS GSNKYAAEAVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WQQGLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGSE IVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANQAIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWQQGLVTVSSGGGGSGGGGGSG GGGQTVVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKTHTCPPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
--	---	--	--

55.	CDR1 VH MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NHAMH
56.	CDR2 VH MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GIWSEGSNKYYAESVKG
57.	CDR3 VH MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYTTGWSYFDY
58.	CDR1 VL MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
59.	CDR2 VL MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
60.	CDR3 VL MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAYDASTWV
61.	VH MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHAMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSS
62.	VL MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKSGQSPVLVIYQDRKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAYDASTWVFGCGTQLTVL
63.	scFv MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHAMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDRKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYDASTWVFGCGTQLTVL
64.	Биспецифическая молекула MU 32-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHAMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY

			<p>FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDRKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYDASTWVFGCGTQLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAWWGQGLVTVSSGGGGG GGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLGVQPEDEAEYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL</p>
65.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 32-G6 CC х I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSNHAMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDRKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYDASTWVFGCGTQLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAWWGQGLVTVSSGGGGG GGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLGVQPEDEAEYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAP ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</p>

				VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGKGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSD KTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
66.	CDR1 VH MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NFGMH
67.	CDR2 VH MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYYASSVKG
68.	CDR3 VH MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
69.	CDR1 VL MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
70.	CDR2 VL MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
71.	CDR3 VL MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWDASTAWV
72.	VH MU 9-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSS

73.	VL MU 9-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWDASTAWVFGCGTKLTVL
74.	scFv MU 9-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWDASTAWVFGCGTKLTVL
75.	Биспецифическая молекула MU 9- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWDASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL
76.	Биспецифическая молекула с HLE MU 9-C2 CC x	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL

	I2C0-scFc			<p> QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWDASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSD KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK </p>
77.	CDR1 VH MU 8-	Искусственный	aa	GYYS

	H9 CC x I2C0-scFc			
78.	CDR2 VH MU 8- H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIEHSGSTKYNPSLKS
79.	CDR3 VH MU 8- H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
80.	CDR1 VL MU 8- H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
81.	CDR2 VL MU 8- H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDNKRPS
82.	CDR3 VL MU 8- H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAYGSSSAV
83.	VH MU 8-H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIEHSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTTLTVSS
84.	VL MU 8-H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQSPSASVSPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSG IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAYGSSSAVFGCGTKLTVL
85.	scFv MU 8-H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIEHSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTTLTVSSGGGGSGGGGSSSY ELTQSPSASVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAYGSSSAVFGCGTKLTVL
86.	Биспецифическая молекула MU 8- H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIEHSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTTLTVSSGGGGSGGGGSSSY

			ELTQSPSASVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAYGSSSAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWQGTLTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVL
87.	Биспецифическая молекула с HLE MU 8-H9 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIEHSG STKYNP SLKSRVTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQSPSASVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAYGSSSAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWQGTLTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE

				<p>EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
88.	CDR1 VH MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
89.	CDR2 VH MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDASGSTKYNPSLKS
90.	CDR3 VH MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
91.	CDR1 VL MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
92.	CDR2 VL MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
93.	CDR3 VL MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSTAV
94.	VH MU 8-H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSS</p>
95.	VL MU 8-H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>SYELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGV</p>

				PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSTAVFGCGTKLTVL
96.	scFv MU 8-H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSrvTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY ELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSTAVFGCGTKLTVL
97.	Биспецифическая молекула MU 8- H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSrvTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY ELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVI.IYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSTAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTL GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVL
98.	Биспецифическая молекула с HLE MU 8-H8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSrvTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY

				<p>ELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSTAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTL GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCP PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
99.	CDR1 VH MU 8- H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SFGMH
100.	CDR2 VH MU 8- H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASNKYYAESVKG

101.	CDR3 VH MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
102.	CDR1 VL MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQAVNRYLA
103.	CDR2 VL MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GASSRAT
104.	CDR3 VL MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QQYGSSIFT
105.	VH MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSS
106.	VL MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQAV NRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVY YCQQYGSSIFTFGCGTKVEIK
107.	scFv MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQAVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYY CQQYGSSIFTFGCGTKVEIK
108.	Биспецифическая молекула MU 8-H5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQAVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYY

			<p>CQQYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL</p>
109.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 8-H5 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQAVN RYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD</p>

				IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
110.	CDR1 VH MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SHYWS
111.	CDR2 VH MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	RIDVSGSANYPALKS
112.	CDR3 VH MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	APYSSGWGYFDY
113.	CDR1 VL MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
114.	CDR2 VL MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HDNKRPS
115.	CDR3 VL MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QAWDITTA
116.	VH MU 8-F11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SSHYWSWIRQSAGKCLEWIGRIDVSGSA NYPALKSRATMSADTSKNQFSLRLSSV TAADTAVYYCARAPYSSGWGYFDYWG

				QGTLVTVSS
117.	VL MU 8-F11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQPGQSPVLVIYHDNKRPSG IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YFCQAWDITTA VFGCGTKLTVL
118.	scFv MU 8-F11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SSHYSWIRQSAGKCLEWIGRIDVSGSA NYPALKSRATMSADTSKNQFSLRLSSV TAADTAVYYCARAPYSSGWGYFDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGGSSYE LTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ASWYQQPGQSPVLVIYHDNKRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYFC QAWDITTA VFGCGTKLTVL
119.	Биспецифическая молекула MU 8- F11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SSHYSWIRQSAGKCLEWIGRIDVSGSA NYPALKSRATMSADTSKNQFSLRLSSV TAADTAVYYCARAPYSSGWGYFDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGGSSYE LTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ASWYQQPGQSPVLVIYHDNKRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYFC QAWDITTA VFGCGTKLTVLSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWRVQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSG GGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSG STGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL
120.	Биспецифическая молекула с HLE	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SSHYSWIRQSAGKCLEWIGRIDVSGSA

	MU 8-F11 CC x I2C0-scFc			NYNPALKSRATMSADTSKNQFSLRLSSV TAADTAVYYCARAPYSSGWGYFDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGGSSSYE LTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ASWYQQPGQSPVLVIYHDNKRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYFC QAWDITTAVFGCGTKLTVLSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSG GGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGLLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGDKTHTCPPCPAPPELLGSPV FLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSG GGGSGGGSGGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
121.	CDR1 VH MU 8-	Искусственный	aa	GYYS

	F9 CC x I2C0-scFc			
122.	CDR2 VH MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDASGSTKYNPSLKS
123.	CDR3 VH MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
124.	CDR1 VL MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
125.	CDR2 VL MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
126.	CDR3 VL MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSAAV
127.	VH MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSS
128.	VL MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
129.	scFv MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YYCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
130.	Биспецифическая молекула MU 8-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSSY

			<p>ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL</p>
131.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 8-F9 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGG SFSGGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTVITSLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTHTCPPEPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE</p>

				<p>EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
132.	CDR1 VH MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	NHGMH
133.	CDR2 VH MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	GIWSDASNKYADAVKG
134.	CDR3 VH MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	ATYTTGWSYFDY
135.	CDR1 VL MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
136.	CDR2 VL MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	QDNKRPS
137.	CDR3 VL MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	QAYDASTWV
138.	VH MU 8-E3 CC	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLACAASGF

	X I2C0-scFc			TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGQGLTVTVSS
139.	VL MU 8-E3 CC X I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPASVSVSPGQTASITCSGDKLG DKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDNKRPS GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEA DYCYQAYDASTWVFGCGTQLTVL
140.	scFv MU 8-E3 CC X I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLACAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSG GGGSSYELTQPASVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDNK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAYDASTWVFGCGTQLTVL
141.	Биспецифическая молекула MU 8- E3 CC X I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLACAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSG GGGSSYELTQPASVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDNK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAYDASTWVFGCGTQLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG GGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW

			VFGGGTKLTVL
142.	Биспецифическая молекула с HIF MU 8-E3 CC X I2C0-scFc	Искусственный aa	<p> QVQLVESGGGVVQPGRSLRLACAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGGTTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSSYELTQPASVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDNK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAYDASTWVFGCGTQLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGGTTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLIGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGS GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD KHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP </p>

				ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
143.	CDR1 VH MU 8- D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
144.	CDR2 VH MU 8- D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDASGSTKYNPSLKS
145.	CDR3 VH MU 8- D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
146.	CDR1 VL MU 8- D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGEKYAS
147.	CDR2 VL MU 8- D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
148.	CDR3 VL MU 8- D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSAAV
149.	VH MU 8-D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTVTVSS
150.	VL MU 8-D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGE KYASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGV PERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
151.	scFv MU 8-D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTVTVSSGGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGEKY ASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVPE RFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWGSSAAVFGCGTKLTVLS
152.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG

	молекула MU 8-D7 CC x I2C0-scFc		<p>SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGEKY ASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVPE RFSGNSNGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL</p>
153.	Биспецифическая молекула с HLE MU 8-D7 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGEKY ASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVPE RFSGNSNGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG</p>

				VQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSPGKGGGGSGGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSPGK
154.	CDR1 VH MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
155.	CDR2 VH MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDQSGSTKYNPSLKS
156.	CDR3 VH MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
157.	CDR1 VL MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
158.	CDR2 VL MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
159.	CDR3 VL MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSAAV
160.	VH MU 8-C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCVAVYGG SFGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLS

				VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTVTVSS
161.	VL MU 8-C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
162.	scFv MU 8-C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
163.	Биспецифическая молекула MU 8- C7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSSGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTL GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVL
164.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG

	молекула с HLE MU 8-C7 CC x I2C0-scFc		SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW RQGLVTVSSGGGGSGGGGGSSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGD YASWYQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLVLSGGGDKTHTCPPAPPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLSDGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCP PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
--	---	--	---

165.	CDR1 VH MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
166.	CDR2 VH MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDQSGSTKYNPSLKS
167.	CDR3 VH MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
168.	CDR1 VL MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
169.	CDR2 VL MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
170.	CDR3 VL MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSAAV
171.	VH MU 8-B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLTVTVSS
172.	VL MU 8-B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGV PERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
173.	scFv MU 8-B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLTVTVSSGGGGGGGGGGSSSY ELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGV ERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDEADY CQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
174.	Биспецифическая молекула MU 8- B8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW

			<p>GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSSSY ELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGS GGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVL</p>
175.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 8-B8 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSSSY ELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGS GGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLI GGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGT KLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS</p>

				HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGS GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKHTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
176.	CDR1 VH MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
177.	CDR2 VH MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDASGSKYNPSLKS
178.	CDR3 VH MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDN
179.	CDR1 VL MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
180.	CDR2 VL MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
181.	CDR3 VL MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSTAV
182.	VH MU 8-B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDNW GQGLTVTVSS
183.	VL MU 8-B7 CC x	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGD

	I2C0-scFc			KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSTAVFGCGTKLTVL
184.	scFv MU 8-B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDNW GQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSTAVFGCGTKLTVL
185.	Биспецифическая молекула MU 8- B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDNW GQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSTAVFGCGTKLTVLSSGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQGLTLTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
186.	Биспецифическая молекула с HLE MU 8-B7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDASG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDNW

				<p>GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSTAVFGCGTKLTVLSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTHTCPPCAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
187.	CDR1 VH MU 8- A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYWS
188.	CDR2 VH MU 8-	Искусственный	aa	DIDQSGSTKYNP SLKS

	A7 CC x I2C0-scFc			
189.	CDR3 VH MU 8- A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
190.	CDR1 VL MU 8- A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
191.	CDR2 VL MU 8- A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
192.	CDR3 VL MU 8- A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSTAV
193.	VH MU 8-A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLVTVSS
194.	VL MU 8-A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSTAVFGCGTKLTVL
195.	scFv MU 8-A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSTAVFGCGTKLTVL
196.	Биспецифическая молекула MU 8- A7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG

			<p>PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSTAVFGCGTKLTVLSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL</p>
197.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 8-A7 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPGQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSTAVFGCGTKLTVLSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTHTCPPELGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ</p>

				VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
198.	CDR1 VH MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
199.	CDR2 VH MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWYSGSNKYATSVKG
200.	CDR3 VH MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
201.	CDR1 VL MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
202.	CDR2 VL MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
203.	CDR3 VL MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
204.	VH MU 7-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGGSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWY SGSNKYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSS
205.	VL MU 7-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK

206.	scFv MU 7-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLVESGGGVVVKPGGSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK</p>
207.	Биспецифическая молекула MU 7- G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLVESGGGVVVKPGGSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
208.	Биспецифическая молекула с HLE MU 7-G6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLVESGGGVVVKPGGSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP</p>

				DRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYC HHYSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
209.	CDR1 VH MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SYGMH
210.	CDR2 VH MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VIWFDASNKYAESVKG

211.	CDR3 VH MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
212.	CDR1 VL MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
213.	CDR2 VL MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
214.	CDR3 VL MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
215.	VH MU 6-B12 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSS
216.	VL MU 6-B12 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
217.	scFv MU 6-B12 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
218.	Биспецифическая молекула MU 6- B12 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY

			<p>WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
219.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 6-B12 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE</p>

				DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
220.	CDR1 VH MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
221.	CDR2 VH MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFQGSNKYYADAVKG
222.	CDR3 VH MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
223.	CDR1 VL MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
224.	CDR2 VL MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
225.	CDR3 VL MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
226.	VH MU 5-H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFQ GSNKYYADAVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSS
227.	VL MU 5-H4 CC x	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN

	I2C0-scFc			RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
228.	scFv MU 5-H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFQ GSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
229.	Биспецифическая молекула MU 5- H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFQ GSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVI.TQSPGTI.SI.SPGERATI.SCRASQINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
230.	Биспецифическая молекула с HLE MU 5-H4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFQ GSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY

				WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYC HHYSSIFTFGCGTKVEIKSGGGSEVQ LVESSGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGVS QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSPGKGGGGSGGGGGGG GSGGGGGSGGGGGGGGGSDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCFSVMHEALHNHYTQKSLSPGK
231.	CDR1 VH MU 5- H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGGYNWA
232.	CDR2 VH MU 5-	Искусственный	aa	YIYYSGSTYYNPSLKS

	H1 CC x I2C0-scFc			
233.	CDR3 VH MU 5- H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EKYSSRWTFDDY
234.	CDR1 VL MU 5- H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDNYAS
235.	CDR2 VL MU 5- H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDNKRPS
236.	CDR3 VL MU 5- H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAFQSSTVV
237.	VH MU 5-H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSI SSGGYNWAWIRQHPGKCLEWIGYIYYS GSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCAREKYSSRWTFDDY WGQGLTVTVSS
238.	VL MU 5-H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD NYASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSG IPERFSGSNGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAFQSSTVVFSGGKTLTVL
239.	scFv MU 5-H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSI SSGGYNWAWIRQHPGKCLEWIGYIYYS GSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCAREKYSSRWTFDDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSS YELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD NYASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSG IPERFSGSNGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAFQSSTVVFSGGKTLTVL
240.	Биспецифическая молекула MU 5- H1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSI SSGGYNWAWIRQHPGKCLEWIGYIYYS GSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCAREKYSSRWTFDDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSS YELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD NYASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSG

			<p>IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAFQSSTVVFSGCKLTLVLSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNKYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL</p>
241.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 5-H1 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSI SSGGYNWAWIRQHPGKCLEWIGYIYYS GSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCAREKYSSRWTFDDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSS YELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD NYASWYQQKPGQSPVLVIYHDNKRPSG IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAFQSSTVVFSGCKLTLVLSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNKYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTHTCPPELGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ</p>

				VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
242.	CDR1 VH MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	NFGMH
243.	CDR2 VH MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYAAEAVKG
244.	CDR3 VH MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
245.	CDR1 VL MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
246.	CDR2 VL MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
247.	CDR3 VL MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QAYEASTAWV
248.	VH MU 4-H11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL

				QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSS
249.	VL MU 4-H11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAYEASTAWVFGCGTKLTVL
250.	scFv MU 4-H11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYEASTAWVFGCGTKLTVL
251.	Биспецифическая молекула MU 4- H11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYEASTAWVFGCGTKLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG GGGGGGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL
252.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF

	молекула с HLE MU 4-H11 CC x I2C0-scFc		TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYEASTAWVFGCGTKLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGG GGGGGGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSD KHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
--	--	--	---

				SLSPGK
253.	CDR1 VH MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NFGMH
254.	CDR2 VH MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYAESVKG
255.	CDR3 VH MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
256.	CDR1 VL MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
257.	CDR2 VL MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
258.	CDR3 VL MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAW EASTAWV
259.	VH MU 4-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSS
260.	VL MU 4-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCYQAW EASTAWVFGCGTKLTVL
261.	scFv MU 4-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCYQAW EASTAWVFGCGTKLTVL
262.	Биспецифическая молекула MU 4- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAESVKGRFTISRDTSMNTLYL

			<p>QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWAESTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL</p>
263.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 4-H2 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASKTYAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWAESTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP</p>

				ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSD KTHCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
264.	CDR1 VH MU 4- G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NFGMH
265.	CDR2 VH MU 4- G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYADAVKG
266.	CDR3 VH MU 4- G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
267.	CDR1 VL MU 4- G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
268.	CDR2 VL MU 4- G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
269.	CDR3 VL MU 4- G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWDASTAWV
270.	VH MU 4-G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS

				YFDYWGGTLTVSS
271.	VL MU 4-G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWDASTAWVFGCGTKLTVL
272.	scFv MU 4-G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGGTLTVSSGGGGGGGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWDASTAWVFGCGTKLTVL
273.	Биспецифическая молекула MU 4-G4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGGTLTVSSGGGGGGGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWDASTAWVFGCGTKLTVL SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSKNTAYLQMNKLTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGGGGGSQTVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKP GQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR WVFGGGTKLTVL
274.	Биспецифическая молекула с HLE	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF

	<p>MU 4-G4 CC x I2C0-scFc</p>		<p>DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWDASTAWVFGCGTKLTVL SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGG GSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKP GQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLG GKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNR WVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPA PEL.I.GGPSVFI.FPPKPKDTI.MISRTPV CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG DKTHTCPPCPAPPELLGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSEFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGK</p>
--	-----------------------------------	--	---

275.	CDR1 VH MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NFGMH
276.	CDR2 VH MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYYYASSVKG
277.	CDR3 VH MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
278.	CDR1 VL MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
279.	CDR2 VL MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
280.	CDR3 VL MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAYSASTAWV
281.	VH MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWF DASKTYYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSS
282.	VL MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAYSASTAWVFGCGTKLTVL
283.	scFv MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWF DASKTYYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYSASTAWVFGCGTKLTVL
284.	Биспецифическая молекула MU 4-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWF DASKTYYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY

			<p>FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYSASTAWVFGCGTKLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAWWGQGLVTVSSGGGGG GGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL</p>
285.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 4-F6 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYSASTAWVFGCGTKLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAWWGQGLVTVSSGGGGG GGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</p>

				VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGKGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
286.	CDR1 VH MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
287.	CDR2 VH MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDYSGSTKYNPSLKS
288.	CDR3 VH MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
289.	CDR1 VL MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGEKYAS
290.	CDR2 VL MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
291.	CDR3 VL MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSAAV
292.	VH MU 4-E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCVYGG SFSGGYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGLTVTVSS

293.	VL MU 4-E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGE KYASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
294.	scFv MU 4-E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPELTLTLCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGEKY ASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWGSSAAVFGCGTKLTVL
295.	Биспецифическая молекула MU 4- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPELTLTLCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGEKY ASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWGSSAAVFGCGTKLTVLSSGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNSYIS YWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLTG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL
296.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-E7 CC x	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPELTLTLCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN

	I2C0-scFc			<p>VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLLTVSSGGGGSGGGGGSSSY ELTQPSSVSVSPGQTASITCSGDKLGEKY ASWYQQKPGQSPVLIYQDRKRPSGVPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSG GGSGGGGGSGGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
297.	CDR1 VH MU 4- C11 CC x I2C0-	Искусственный	aa	SYGMH

	scFc			
298.	CDR2 VH MU 4- C11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VISYDASNKYYASAVKG
299.	CDR3 VH MU 4- C11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
300.	CDR1 VL MU 4- C11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	RASQSVNRYLA
301.	CDR2 VL MU 4- C11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GASNRAT
302.	CDR3 VL MU 4- C11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFA
303.	VH MU 4-C11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYYASAVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTTLTVSS
304.	VL MU 4-C11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSV NRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRAT GIPDRFTGSGGTDFLTISRLEPEDFAV YFCHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
305.	scFv MU 4-C11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYYASAVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTTLTVSSGGGGSGGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIK

306.	Биспецифическая молекула MU 4-C11 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYYASAVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL</p>
307.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-C11 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYYASAVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG</p>

				GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
308.	CDR1 VH MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
309.	CDR2 VH MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASNKYAESVKG
310.	CDR3 VH MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
311.	CDR1 VL MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSVNRYLA
312.	CDR2 VL MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GASNRAT
313.	CDR3 VL MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFA
314.	VH MU 4-C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF

				DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSS
315.	VL MU 4-C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSV NRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRAT GIPDRFTGSGSGTDFTLISRLEPEDFAV YFCHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
316.	scFv MU 4-C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
317.	Биспецифическая молекула MU 4- C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL

318.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-C4 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	<p> QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSG VQPEDEAFYYCVI.WYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKTHTCPPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSG GGGSGGGSGGGGSGGGGSDKHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG </p>
------	---	------------------	---

				NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
319.	CDR1 VH MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
320.	CDR2 VH MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VISYEGSNKYAESVKG
321.	CDR3 VH MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
322.	CDR1 VL MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSVNRYLA
323.	CDR2 VL MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GASNRAT
324.	CDR3 VL MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFA
325.	VH MU 4-C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYE GSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGLTLTVSS
326.	VL MU 4-C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSV NRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRAT GIPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEFAV YFCHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
327.	MU 4-C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYE GSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGLTLTVSSGGGGSGGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
328.	Биспецифическая молекула MU 4- C3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYE GSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ

			<p>MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL</p>
329.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 4-C3 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAISYE GSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV</p>

				FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
330.	CDR1 VH MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	NFGMH
331.	CDR2 VH MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYAYASSVKG
332.	CDR3 VH MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
333.	CDR1 VL MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
334.	CDR2 VL MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
335.	CDR3 VL MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QAWSASTAWV

336.	VH MU 4-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSS
337.	VL MU 4-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
338.	scFv MU 4-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
339.	Биспецифическая молекула MU 4- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK

			AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL
340.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASKTYYASSVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSD KHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT

				KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
341.	CDR1 VH MU 4- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
342.	CDR2 VH MU 4- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VISYDASNKYASSVKG
343.	CDR3 VH MU 4- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
344.	CDR1 VL MU 4- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSVNRYLA
345.	CDR2 VL MU 4- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GASNRAT
346.	CDR3 VL MU 4- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFA
347.	VH MU 4-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTTLTVSS
348.	VL MU 4-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSV NRYLAWYQQKPGQAPRLIYGASNRAT GIPDRFTGSGGTDFLTISRLEPEFAV YFCHHYGSSIFAFGCGTKVEIK
349.	scFv MU 4-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTTLTVSSGGGGSGGGGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLIYGASNRATG IPDRFTGSGGTDFLTISRLEPEFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIK

350.	Биспецифическая молекула MU 4-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLTG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL</p>
351.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVISYD ASNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATG IPDRFTGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYF CHHYGSSIFAFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG</p>

				GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
352.	CDR1 VH MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NFGMH
353.	CDR2 VH MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYYAESVKG
354.	CDR3 VH MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
355.	CDR1 VL MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
356.	CDR2 VL MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
357.	CDR3 VL MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWSASTAWV
358.	VH MU 4-B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF

				DASKTYAAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSS
359.	VL MU 4-B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
360.	scFv MU 4-B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
361.	Биспецифическая молекула MU 4- B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL

362.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-B1 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAESVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKS
------	--	------------------	--

				RWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
363.	CDR1 VH MU 4- A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NFGMH
364.	CDR2 VH MU 4- A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYADAVKG
365.	CDR3 VH MU 4- A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
366.	CDR1 VL MU 4- A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
367.	CDR2 VL MU 4- A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
368.	CDR3 VL MU 4- A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWSASTAWV
369.	VH MU 4-A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGQGLTVTVSS
370.	VL MU 4-A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
371.	scFv MU 4-A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYTSWYQKPGQSPVLVIYHDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
372.	Биспецифическая молекула MU 4-	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF

	A8 CC x I2C0-scFc			DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKP GQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLG GKAALTLGVPQPEDEAEYYCVLWYSNR WVFGGGTKLTVL
373.	Биспецифическая молекула с HLE MU 4-A8 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWRQAPGKCLEWVAIVWF DASKTYADAVKGRFTISRDTSMNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH GNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKP GQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLG GKAALTLGVPQPEDEAEYYCVLWYSNR

				WVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS DKTHTCPPCPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRC VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
374.	CDR1 VH MU 3- C10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SYGMH
375.	CDR2 VH MU 3- C10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VIWYSGSNKYYATSVKG
376.	CDR3 VH MU 3- C10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
377.	CDR1 VL MU 3- C10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
378.	CDR2 VL MU 3- C10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
379.	CDR3 VL MU 3-	Искусственный	aa	HHYGSSIFT

	C10 CC x I2C0-scFc			
380.	VH MU 3-C10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSS
381.	VL MU 3-C10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
382.	scFv MU 3-C10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
383.	Биспецифическая молекула MU 3-C10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS

				TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
384.	Биспецифическая молекула с HLE MU 3-C10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWY SGSNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTI.VTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP ETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ

				DWLNKKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP PVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
385.	CDR1 VH MU 2- F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
386.	CDR2 VH MU 2- F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASNKYAESVKG
387.	CDR3 VH MU 2- F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
388.	CDR1 VL MU 2- F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
389.	CDR2 VL MU 2- F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
390.	CDR3 VL MU 2- F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
391.	VH MU 2-F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYAESVKGRTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSS
392.	VL MU 2-F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
393.	scFv MU 2-F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYAESVKGRTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC

				HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
394.	Биспецифическая молекула MU 2-F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
395.	Биспецифическая молекула с HLE MU 2-F7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS

				TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGTV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
396.	CDR1 VH MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
397.	CDR2 VH MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWYTGSNKYYAHSVKG
398.	CDR3 VH MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
399.	CDR1 VL MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
400.	CDR2 VL MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
401.	CDR3 VL MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
402.	VH MU 02-E7 CC	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGF

	x I2C0-scFc			TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY TGSNKYYAHSVKGFRFAISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGTLTVSS
403.	VL MU 02-E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
404.	scFv MU 02-E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY TGSNKYYAHSVKGFRFAISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
405.	Биспецифическая молекула MU 02- E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRSLCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY TGSNKYYAHSVKGFRFAISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGG GGSTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGTV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL

				TVL
406.	Биспецифическая молекула с HLE MU 02-E7 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWIY TGSNKYYAHSVKGRFAISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSDTFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSISFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGG GGSGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP

				PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
407.	CDR1 VH MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	NHGMH
408.	CDR2 VH MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	GIWSDASNKYAEAVKG
409.	CDR3 VH MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	ATYTTGWSYFDY
410.	CDR1 VL MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
411.	CDR2 VL MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HDRKRPS
412.	CDR3 VL MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QAYDRSTAWV
413.	VH MU 2-D11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYAEAVKGRFTISRDTSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSS
414.	VL MU 2-D11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQSPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAYDRSTAWVFGCGTKLTVL
415.	scFv MU 2-D11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYAEAVKGRFTISRDTSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGG

				GGSSYELTQSPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDRKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYDRSTAWVFGCGTKLTVL
416.	Биспецифическая молекула MU 2- D11 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYAEAVKGRFTISRDTSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQSPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDRKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYDRSTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL
417.	Биспецифическая молекула с HLE MU 2-D11 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS DASNKYAEAVKGRFTISRDTSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQSPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDRKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAYDRSTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD

				SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWQGGLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT VLTTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSD KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
418.	CDR1 VH MU 2- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	NHGMH
419.	CDR2 VH MU 2- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GIWSEGSNKYYADAVKG
420.	CDR3 VH MU 2- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	ATYTTGWSYFDY
421.	CDR1 VL MU 2- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
422.	CDR2 VL MU 2- C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDAKRPS

423.	CDR3 VL MU 2-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAFHQSTWV
424.	VH MU 2-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGQGLTVTVSS
425.	VL MU 2-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKSGQSPVLVIYQDAKRPSG IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAFHQSTWVFGCGTQLTVL
426.	scFv MU 2-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAFHQSTWVFGCGTQLTVL
427.	Биспецифическая молекула MU 2-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAFHQSTWVFGCGTQLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGS GGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGT

			VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL
428.	Биспецифическая молекула с HLE MU 2-C2 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNHGMHWVRQAPGKCLEWVAGIWS EGSNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARATYTTGWS YFDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGD KLGDKYASWYQQKSGQSPVLVIYQDAK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYYCQAFHQSTWVFGCGTQLTVLSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGGTLVTVSSGGGGG GGGGSGGGGQTVVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD KHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS

				<p>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK</p>
429.	CDR1 VH MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SFGMH
430.	CDR2 VH MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASNKYAESVKG
431.	CDR3 VH MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
432.	CDR1 VL MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQAINRYLA
433.	CDR2 VL MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GASSRAT
434.	CDR3 VL MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QHYGSSIFT
435.	VH MU 2-A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSS</p>
436.	MU 2-A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>EIVLTQSPGTLVSPGERATLSCRASQAI NRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVY YCQHYGSSIFTFGCGTKVEIK</p>
437.	scFv VL MU 2-A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLVSPGERATLSCRASQAIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI</p>

				PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQHYGSSIFTFGCGTKVEIK
438.	Биспецифическая молекула MU 2- A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQAIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSG GGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL
439.	Биспецифическая молекула с HLE MU 2-A3 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF DASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSVSPGERATLSCRASQAIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSG

				GGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGDKHTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
440.	CDR1 VH MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
441.	CDR2 VH MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWYDASNKYATSVKG
442.	CDR3 VH MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
443.	CDR1 VL MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
444.	CDR2 VL MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
445.	CDR3 VL MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT

446.	VH MU 1-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWYD ASNKYYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSS
447.	VL MU 1-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
448.	scFv MU 1-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWYD ASNKYYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
449.	Биспецифическая молекула MU 1- H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWYD ASNKYYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNHWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSV

			QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
450.	Биспецифическая молекула с HLE MU 1-H2 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWYD ASNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGTV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGGSDKHTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP ETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC

				LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
451.	CDR1 VH MU 1- E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
452.	CDR2 VH MU 1- E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFHGSNKYYAESVKG
453.	CDR3 VH MU 1- E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GAYTYGFDY
454.	CDR1 VL MU 1- E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
455.	CDR2 VL MU 1- E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
456.	CDR3 VL MU 1- E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
457.	VH MU 1-E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF HGSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLVTVSS
458.	VL MU 1-E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
459.	scFv MU 1-E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAIVWF HGSNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
460.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF

	молекула MU 1-E9 CC x I2C0-scFc		TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF HGSNKYYAESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTL SGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
461.	Биспецифическая молекула с HLE MU 1-E9 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF HGSNKYYAESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGAYTYGFDY WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASN RATGIP DRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTL SGV

				<p>QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKLSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPC PAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>
462.	CDR1 VH MU 1- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	NFGMH
463.	CDR2 VH MU 1- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	VIWFDASKTYAAEAVKG
464.	CDR3 VH MU 1- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	ATYSTGWSYFDY
465.	CDR1 VL MU 1- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYTS
466.	CDR2 VL MU 1- B10 CC x I2C0- scFc	Искусственный	aa	HDAKRPS
467.	CDR3 VL MU 1-	Искусственный	aa	QAWSASTAWV

	B10 CC x I2C0-scFc			
468.	VH MU 1-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSS
469.	VL MU 1-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
470.	scFv MU 1-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVL
471.	Биспецифическая молекула MU 1-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWF DASKTYAAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGGGSTVVTQEPSLTVSPGGT

			VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVL
472.	Биспецифическая молекула с HLE MU 1-B10 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWF DASKTYAEAVKGRFTISRDTSMNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARATYSTGWSY FDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVSPQTASITCSGDK LGDKYTSWYQQKPGQSPVLVIYHDAKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWSASTAWVFGCGTKLTVLS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSL AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHG NFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGG SGGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSD KHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS

				<p>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK</p>
473.	CDR1 VH MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYSWS
474.	CDR2 VH MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDYSGSTKYNPSSLKS
475.	CDR3 VH MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
476.	CDR1 VL MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAN
477.	CDR2 VL MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HDNKRPS
478.	CDR3 VL MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAYGISSAV
479.	VH MU 1-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVAVYGG SFSGGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSSLKSRVTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSS</p>
480.	VL MU 1-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>SYELTQPASASVSPGQTASITCSGDKLG DKYANWYQQKPGQSPILVIYHDNKRPS GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEA DYYCQAYGISSAVFGCGTKLTVL</p>
481.	scFv MU 1-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	<p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVAVYGG SFSGGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSSLKSRVTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY ELTQPASASVSPGQTASITCSGDKLGDK YANWYQQKPGQSPILVIYHDNKRPSGIP</p>

				ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAYGISSAVFGCGTKLTVL
482.	Биспецифическая молекула MU 1- B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSLKSrvTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY ELTQPASASVSPGQTASITCSGDKLGDK YANWYQQKPGQSPILVIYHDNKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAYGISSAVFGCGTKLTVLSSGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVL
483.	Биспецифическая молекула с HLE MU 1-B6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDYSG STKYNPSLKSrvTISLDTSKNQFSLKLNS VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSY ELTQPASASVSPGQTASITCSGDKLGDK YANWYQQKPGQSPILVIYHDNKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYY CQAYGISSAVFGCGTKLTVLSSGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG

				GGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLG VQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTK LTVLGGGGDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGDKHTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
484.	CDR1 VH MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GYYS
485.	CDR2 VH MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	DIDQSGSTKYNPSLKS
486.	CDR3 VH MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	KKYSTVWSYFDY
487.	CDR1 VL MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SGDKLGDKYAS
488.	CDR2 VL MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QDRKRPS
489.	CDR3 VL MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QAWGSSAAV

490.	VH MU 1-A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLTVSS
491.	VL MU 1-A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYELTQPSSVSPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
492.	scFv MU 1-A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSAAVFGCGTKLTVL
493.	Биспецифическая молекула MU 1- A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG SFSGYYSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSPPGQTASITCSGDKLGD KYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSG VPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSSGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFT FNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQTLTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALT

			LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
494.	Биспецифическая молекула с HLE MU 1-A6 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCVYGG SFSGYYWSWIRQPPGKCLEWIGDIDQSG STKYNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLN VTAADTAVYFCARKKYSTVWSYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSSY ELTQPSSVSVPPQTASITCSGDKLGDK YASWYQQKPGQSPVLVIYQDRKRPSGV PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWGSSAAVFGCGTKLTVLSGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQTVVTQEPLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKHTHTCP PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPCEEQYGSYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT

				CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
495.	CDR1 VH MU 0- F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SFGMH
496.	CDR2 VH MU 0- F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWYTGSNKYYASSVKG
497.	CDR3 VH MU 0- F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
498.	CDR1 VL MU 0- F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
499.	CDR2 VL MU 0- F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
500.	CDR3 VL MU 0- F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
501.	VH MU 0-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFT FSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWYT GSNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSS
502.	VL MU 0-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
503.	scFv MU 0-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFT FSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWYT GSNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
504.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFT

	молекула MU 0-F9 CC x I2C0-scFc		FSSFGMHWRQAPGKCLEWVAWIWYT GSNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
505.	Биспецифическая молекула с HLE MU 0-F9 CC x I2C0-scFc	Искусственный aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSAAASGFT FSSFGMHWRQAPGKCLEWVAWIWYT GSNKYYASSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGSV

				QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEAL HNHYTQKLSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPC PAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FNCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
506.	CDR1 VH MU 0- F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
507.	CDR2 VH MU 0- F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWFDASNKYYAESVKG
508.	CDR3 VH MU 0- F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
509.	CDR1 VL MU 0- F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
510.	CDR2 VL MU 0- F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
511.	CDR3 VL MU 0- F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
512.	VH MU 0-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ

				MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGLTVTVSS
513.	VL MU 0-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
514.	scFv MU 0-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
515.	Биспецифическая молекула MU 0-F6 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFT FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
516.	Биспецифическая	Искусственный	aa	QVQLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFT

	молекула с HLE MU 0-F6 CC x I2C0-scFc		FSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWFD ASNKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDYW GQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSEI VLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSTFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
--	---	--	--

517.	CDR1 VH MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	SYGMH
518.	CDR2 VH MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	VIWYDASNKYYATSVKG
519.	CDR3 VH MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	GGYTYGFDY
520.	CDR1 VL MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	RASQSINRYLA
521.	CDR2 VL MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	TASNRAT
522.	CDR3 VL MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	HHYGSSIFT
523.	VH MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWY DASNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSS
524.	VL MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIN RYLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CHHYGSSIFTFGCGTKVEIK
525.	scFv MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWY DASNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIK
526.	Биспецифическая молекула MU 0-E5 CC x I2C0-scFc	Искусственный	aa	QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIWY DASNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY

			<p>WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
527.	<p>Биспецифическая молекула с HLE MU 0-E5 CC x I2C0-scFc</p>	Искусственный aa	<p>QVQLVESGGGVVVKPGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWY DASNKYYATSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNNLRAEDTAVYYCARGGYTYGFDY WGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGSE IVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSINR YLAWYQQKPGQAPRLLIYTASNRTGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC HHYGSSIFTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE</p>

				DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSDKHTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
528.	Эпитоп MUC17	E2	Искусственный	aa	EVVSSIDIGPPETISAQMELTVTVTSVKFT EELKNHSSQEFQEFKQTFTEQMNIVYSGI PEYVGVNITKLRRLGSSVVEHDVLLRTK YTPEYKTVLDNATEVVKEKITKVTTQQI MINDICSDMMCF
529.	Эпитоп MUC17 (укороченный N- конец)	E2 N-	Искусственный	aa	SAQMELTVTVTSVKFTEELKNHSSQEFQ EFKQTFTEQMNIVYSGIPEYVGVNITKLR LGSVVEHDVLLRTKYTPEYKTVLDNA TEVVKEKITKVTTQQIMINDICS
530.	Эпитоп MUC17 (содержит часть E2)	5A	Искусственный	aa	RTTTCFGDGCQNTASRCKNGGTWDGLK CQCPNLYYGELCEEVSSIDIGPPETISA QMELTVTVTSVKFTEELKNHSSQEFQEF KQTFTEQMNIVYSGIPEYVGVNITKLR L G
531.	Эпитоп MUC17 (содержит часть E2)	5B	Искусственный	aa	SVVVEHDVLLRTKYTPEYKTVLDNATE VVKEKITKVTTQQIMINDICSDMMCFNT TGTQVQNITVTQYDPEEDCRKMAKEYG DYFVVEYRDQKPYCISPCEPGFSVSKNC NLGKCQMSLSGPQCLCVTTETHWYSGE

				TCNQGTQKS
532.	Усеч. 2 эпитоп E2 MUC17	Искусственный	aa	EVVSSIDIGPPETISAQMELT ¹ VTVT ² SVKFT ³ EELKNHSSQEFQEFKQTFTEQM ⁴ NIVYSGI ⁵ PEYVGVNITKLR ⁶ LGSVVVEHDVLLR ⁷ TK ⁸ YTPEYKTVLDNATEV ⁹ VKEKITKVTTQ ¹⁰ QI ¹¹ MINDICSDMMC ¹² FNTTGTQVQ ¹³ NITVTQY ¹⁴ DPEEDCRKMAKEYGDYFVVEYRDQ ¹⁵ KP ¹⁶ YCISPCEPGFSVSKNCNLGKCQMSLSGP ¹⁷ QCLCVTTETHWYSGETCNQGTQKSL
533.	Усеч. 3 эпитоп E2 MUC17	Искусственный	aa	ISAQMELT ¹ VTVT ² SVKFT ³ EELKNHSSQEF ⁴ QEFKQTFTEQM ⁵ NIVYSGI ⁶ PEYVGVNITK ⁷ L ⁸ RLGSVVVEHDVLLR ⁹ TKYTPEYKTVLDN ¹⁰ ATEVVKEKITKVTTQ ¹¹ IMINDICSDMMC ¹² FNTTGTQVQ ¹³ NITVTQYDPEEDCRKMAK ¹⁴ EYGDYFVVEYRDQ ¹⁵ KPYCISPCEPGFSV ¹⁶ S ¹⁷ KNCNLGKCQMSLSGPQCLCVTTETHWY ¹⁸ SGETCNQGTQKSL
534.	Усеч. 4 эпитоп E2 MUC17	Искусственный	aa	DMMC ¹ FNTTGTQVQ ² NITVTQYDPEEDCR ³ KMAKEYGDYFVVEYRDQ ⁴ KPYCISPCEP ⁵ GFSVSKNCNLGKCQMSLSGPQCLCVTT ⁶ ETHWYSGETCNQGTQKSL
535.	Усеч. 5 эпитоп E2 MUC17	Искусственный	aa	SPCEPGFSVSKNCNLGKCQMSLSGPQCL ¹ CVTTETHWYSGETCNQGTQKSL

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конструкция на основе биспецифического антитела, отличающаяся тем, что содержит: первый домен, который связывается с MUC17; и второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и Масаса; при этом первый связывающий домен содержит участок VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

(a) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 55, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 56, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 57;

(b) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 176, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 177, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 178;

(c) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 418, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 419, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 420;

(d) CDR-H1, приведенного под SEQ ID NO: 473, CDR-H2, приведенного под SEQ ID NO: 474, и CDR-H3, приведенного под SEQ ID NO: 475;

и первый связывающий домен содержит участок VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

(a) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 58, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 59, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 60;

(b) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 179, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 180, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 181;

(c) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 421, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 422, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 423; и

(d) CDR-L1, приведенного под SEQ ID NO: 476, CDR-L2, приведенного под SEQ ID NO: 477, и CDR-L3, приведенного под SEQ ID NO: 478.

2. Конструкция на основе биспецифического антитела по п.1, отличающаяся тем, что дополнительно содержит третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирный участок, домен CH2 и домен CH3, где указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера.

3. Конструкция на основе биспецифического антитела по п.1 или 2, отличающаяся тем, что конструкция на основе антитела представляет собой одноцепочечную конструкцию на основе антитела.

4. Конструкция на основе биспецифического антитела по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что первый связывающий домен содержит участок VL и участок VH, выбранные из группы, состоящей из:

(a) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 62, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 61;
 (b) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 183, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 182;

(c) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 425, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 424; и

(d) участка VL, приведенного под SEQ ID NO: 480, и участка VH, приведенного под SEQ ID NO: 479.

5. Конструкция на основе биспецифического антитела по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что конструкция на основе антитела содержит последовательность, выбранную из аминокислотной последовательности, приведенной под любым из SEQ ID NO: 63, 184, 426 и 481.

6. Конструкция на основе биспецифического антитела по любому из пп.1-5, отличающаяся тем, что конструкция на основе антитела содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

(a) первый домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 63, 184, 426 и 481;

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

(c) второй домен, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15.

7. Конструкция на основе биспецифического антитела по п.6, отличающаяся тем, что конструкция на основе антитела дополнительно содержит в направлении от аминоконца к карбоксильному концу:

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

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

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

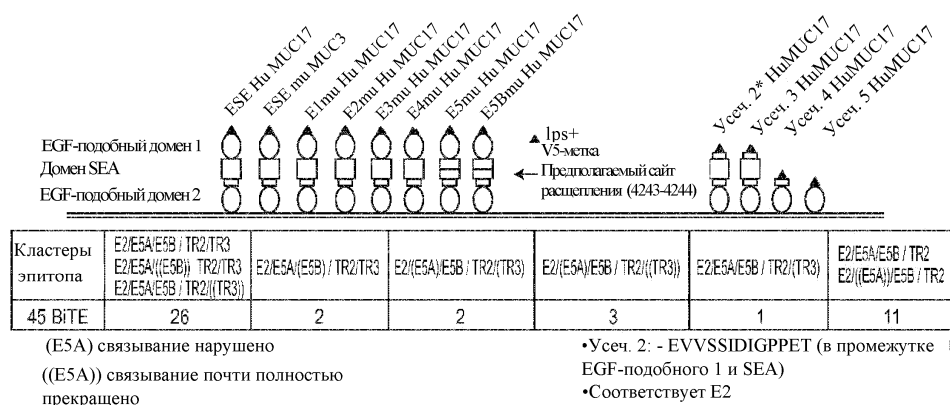
(g) второй полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

8. Конструкция на основе биспецифического антитела по любому из пп.1-7, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 185 или 186, или имеющая аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью с указанными последовательностями.

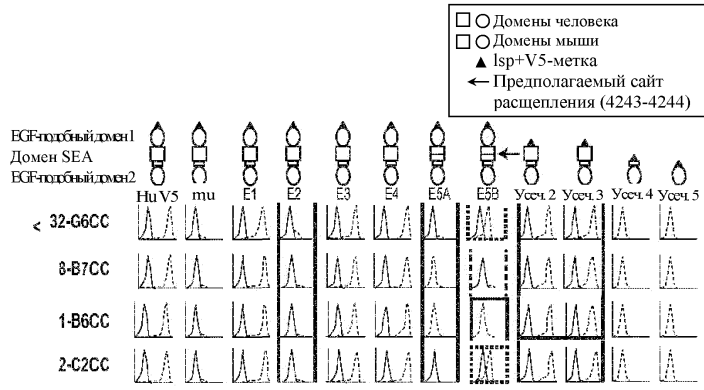
9. Фармацевтическая композиция, отличающаяся тем, что содержит конструкцию на основе биспецифического антитела по любому из пп.1-8.

10. Применение конструкции на основе биспецифического антитела по любому из пп.1-8 для профилактики, лечения или уменьшения интенсивности заболевания, выбранного из пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, рака или иммунологического нарушения.

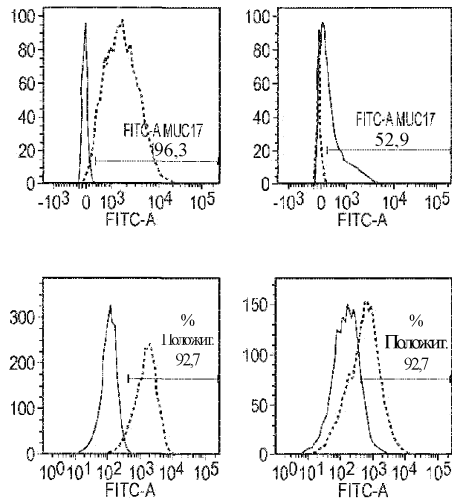
11. Применение по п.10, отличающееся тем, что заболевание представляет собой рак желудочно-кишечного тракта, рак желудка или рак поджелудочной железы.



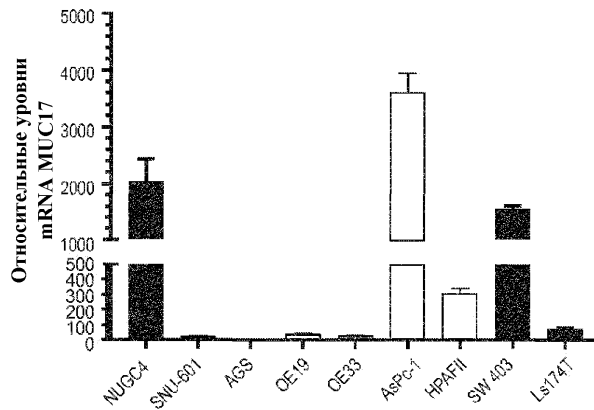
Фиг. 1



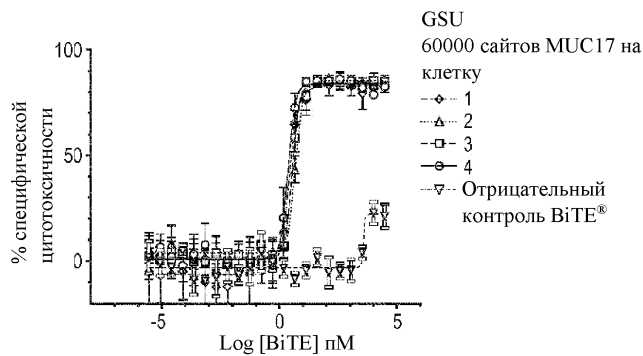
Фиг. 2



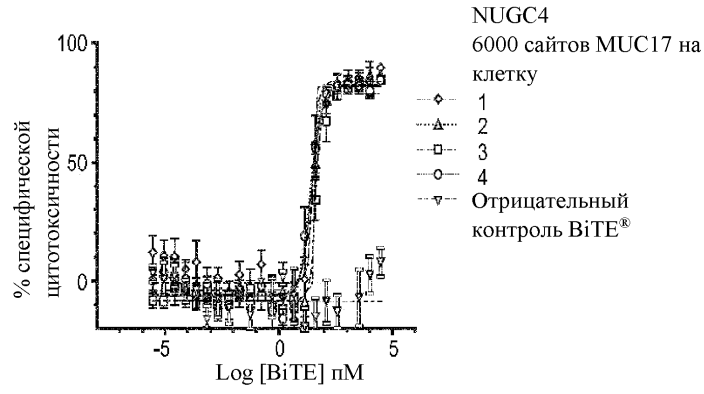
Фиг. 3А



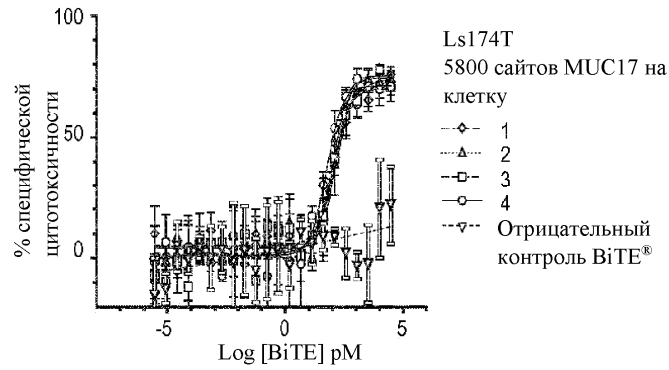
Фиг. 3В



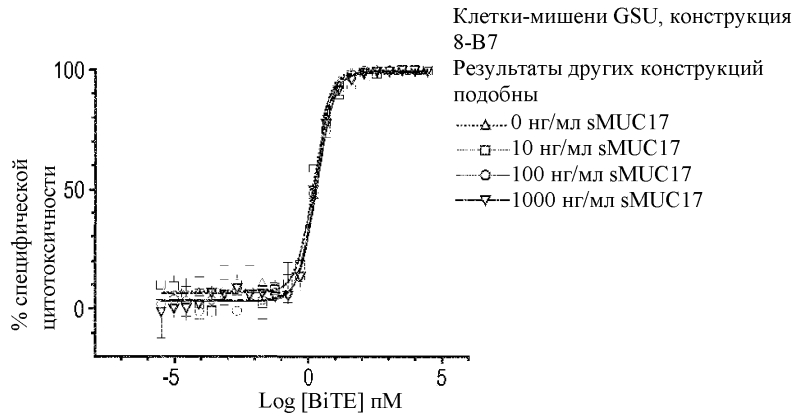
Фиг. 4А



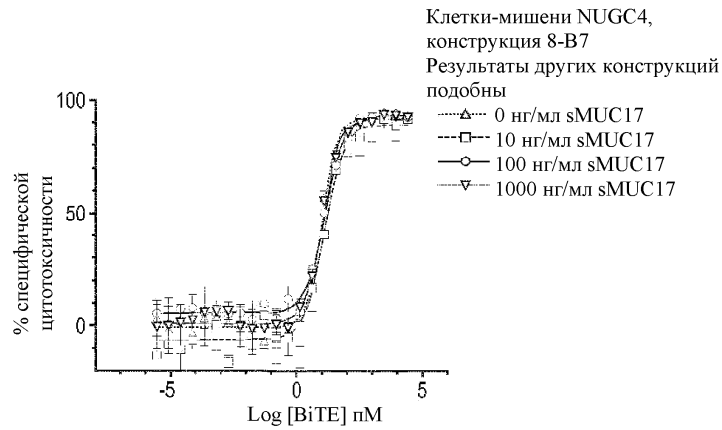
Фиг. 4B



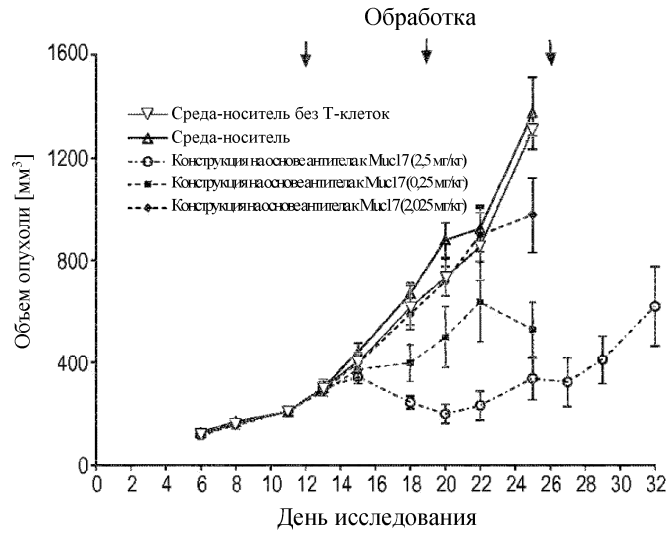
Фиг. 4C



Фиг. 5A



Фиг. 5B

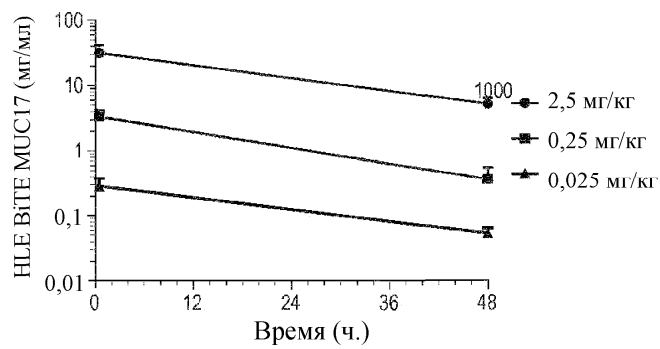


Фиг. 6

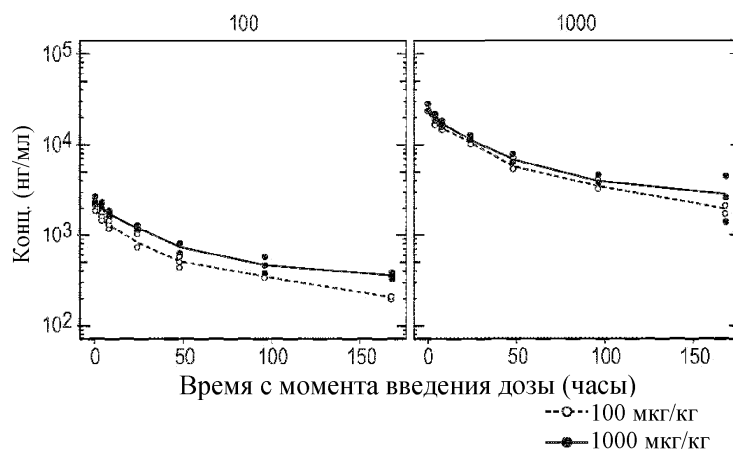
ОРТ библиотека	Антигено ViTE к MUC17 x 12CO-scFc	Кластер эпитопа	Аффинность HuMUC17 [nM] (Biacore)	NUGC-4 и необработ.		VH_VL
				NUG/Kd _h	VH_VL	
2-D11 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	0.70	21.5	30.7	3 IG	
8-E3 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	2.40	35.1	146.2	3 IG	
32-G6 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	0.40	49.0	122.5	3 IG	
2-C2 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	0.50	32.4	64.8	3 IG	
8-A7 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	1.10	9.9	9.0	4 IG	
8-B7 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	1.20	17.2	14.3	4 IG	
8-B8 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	1.00	20.6	20.6	4 IG	
8-C7 CC	E2/E5A/(E5B) / TR2/TR3	1.10	18.9	18.7	4 IG	
8-H8 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	1.40	17.1	12.2	4 IG	
8-D7 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	1.20	21.3	17.6	4 IG	
4-E7 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	2.20	20.8	9.2	4 IG	
8-F9 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	1.10	13.6	12.4	4 IG	
1-A8 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	1.00	8.0	9.0	4 IG	
8-H9 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	5.00	39.2	7.8	4 IG	
1-B6 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	3.40	27.5	8.7	4 IG	
8-F11 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	64.90	44.2	9.9	4 IG	
6	6-B12 CC	E2/(E5A)/E5B / TR2/(TR3)	0.10	142	1419.5	3 IG
6	7-G6 CC	E2/(E5A)/E5B / TR2/(TR3)	0.40	247	618.5	3 IG
6	0-F6 CC	E2/E5A/E5B / TR2	0.80	458	610.5	3 IG
6	0-F9 CC	E2/E5A/E5B / TR2/(TR3)	0.50	229	448.1	3 IG
6	1-E9 CC	E2/E5A/E5B / TR2/(TR3)	0.30	102	408.0	3 IG
6	1-H2 CC	E2/(E5A)/E5B / TR2/(TR3)	0.80	253	323.1	3 IG
6	02-E7 CC	E2/(E5A)/E5B / TR2/(TR3)	0.20	29	1454.2	3 IG
6	2-F7 CC	E2/E5A/E5B / TR2/(TR3)	0.40	152	379.3	3 IG
6	5-H4 CC	E2/E5A/E5B / TR2	2.50	893	333.2	3 IG
6	0-E5 CC	E2/(E5A)/E5B / TR2/(TR3)	0.20	190	350.0	3 IG
6	3-C10 CC	E2/E5A/E5B / TR2	0.60	327	545.0	3 IG
7	8-H5 CC	E2/E5A/E5B / TR2	1.30	300	1002.5	3 IG
7	92-C12 CC	E2/E5A/E5B / TR2	3.30	411	429.4	3 IG
7	2-A3 CC	E2/E5A/E5B / TR2	1.70	697	974.7	3 IG
8	4-C3 CC	E2/(E5A)/E5B / TR2	9.10	2975	328.9	3 IG
8	92-G6 CC	E2/E5A/E5B / TR2	6.30	750	273.4	3 IG
8	4-C11 CC	E2/E5A/E5B / TR2	7.60	2445	322.0	3 IG
8	4-C4 CC	E2/E5A/E5B / TR2	0.60	493	711.7	3 IG
8	4-B6 CC	E2/E5A/E5B / TR2	4.70	2374	483.8	3 IG
9	9-C2 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	2.40	754	64.2	3 IG
9	1-B10 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	33.10	147	34.7	3 IG
9	4-B1 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	19.70	112	56.7	3 IG
9	4-F6 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	19.20	392	20.4	3 IG
9	4-G4 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	3.20	135	42.2	3 IG
9	4-A8 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	12.50	753	60.2	3 IG
9	4-B10 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	15.30	731	52.0	3 IG
9	4-H11 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	3.40	120	35.3	3 IG
9	4-H2 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	2.60	719	45.8	3 IG
9	5-H1 CC	E2/E5A/E5B / TR2/TR3	38.70	31.6	32.2	4 IG

(E5A) связывание нарушено ((E5A) связывание почти полностью прекращено)

Фиг. 7



Фиг. 8А



Фиг. 8В

