

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **046716**

(13) **B1**

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

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.04.15**

**(21)** Номер заявки  
**202291415**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2020.12.10**

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

---

**(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К ВСМА/4-1ВВ И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

**(31)** **62/945,965; PCT/KR2019/018357**

**(32)** **2019.12.10; 2019.12.24**

**(33)** **US; KR**

**(43)** **2022.11.07**

**(86)** **PCT/KR2020/018029**

**(87)** **WO 2021/118246 2021.06.17**

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ЭЙБИЭЛ БИО, ИНК. (KR)**

**(72)** Изобретатель:  
**Пак Кён Джин, Ли Ян Сун, Лим Сэ И,  
Чон Хэ Джин, Пак Кён Су, Сон Ён Кю,  
Сон Сон Кю, Сон Вон Чжун, Ким Ын  
Чон, Ом Дже Хён, Чон Ый Чон, Пак  
Мин Чжи, Хон Чон Хён (KR)**

**(74)** Представитель:  
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,  
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев  
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,  
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

**(56)** US-A1-20170051068  
US-A1-20190194329  
WO-A1-2015158671  
CLAUS, C. et al., "Tumor-targeted 4-1BB agonists for combination with T cell bispecific antibodies as off-the-shelf therapy", Science Translational Medicine, 12 June 2019, vol. 11, article number: eaav5989, p. 1-12, abstract; p. 2-5  
US-A1-20090162360

---

**(57)** Представлено биспецифическое антитело к антигену созревания В-клеток (ВСМА)/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент, а также их применение. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут характеризоваться высокой аффинностью связывания как с белком ВСМА, так и с белком 4-1ВВ и могут быть эффективно применимы для предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них (например, рака).

---

**B1**

**046716**

**046716 B1**

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к биспецифическим антителам к ВСМА/4-1ВВ, обеспечивающим эффективное блокирование взаимодействий между ВСМА и его лигандом, а также активирование передачи сигналов с участием 4-1ВВ; способу их получения и их применению. Биспецифические антитела могут иметь высокую аффинность связывания как с белком ВСМА, так и с белком 4-1ВВ.

### **Предпосылки изобретения**

Антиген созревания В-клеток (ВСМА) представляет собой белок весом приблизительно 20 кДа и принадлежит к надсемейству рецепторов фактора некроза опухоли (TNFR). Также известно, что ВСМА имеет лиганд В-клеточного активирующего фактора, принадлежащего к семейству факторов некроза опухоли (BAFF), и лиганд А, индуцирующий пролиферацию (APRIL). В патологических ситуациях ВСМА экспрессируется в опухолевых плазматических клетках пациентов с множественной миеломой (ММ), а показатели выживаемости пациентов с множественной миеломой ниже при более высокой экспрессии ВСМА (Mogeaux et al., Eur. J. Haematol., 2009, 83:119-129). Множественная миелома представляет собой неопластическое заболевание, вызванное моноклональной пролиферацией плазматических клеток. Уровень начального лечения увеличился благодаря разработке таких лекарственных средств, как талидомид, бортезомид и леналидомид, а также разработке способов лечения. Однако выживаемость пациентов с множественной миеломой значительно не улучшилась.

4-1ВВ является представителем надсемейства TNF-рецепторов (TNFRSF) и представляет собой ко-стимулирующую молекулу, которая экспрессируется после активации иммунных клеток, включая как врожденные, так и адаптивные иммунные клетки. 4-1ВВ играет важную роль в модулировании активности различных иммунных клеток. Агонистические в отношении 4-1ВВ антитела усиливают пролиферацию иммунных клеток, выживаемость, секрецию цитокинов и цитолитическую активность CD8 Т-клеток. Многие другие исследования показали, что активация 4-1ВВ усиливает иммунный ответ в отношении устранения опухолей у мышей. Следовательно, это предполагает, что 4-1ВВ является многообещающей целевой молекулой в иммунологии рака. Несмотря на свою противоопухолевую эффективность, антитела к 4-1ВВ при клиническом применении вызывают серьезную гепатотоксичность.

Мультиспецифические антитела, нацеленные на два или более антигенов, были разработаны в различных видах и формах, и ожидается, что они станут новыми лекарственными антителами, характеризующимися превосходными терапевтическими эффектами по сравнению с моноклональными антителами. Соответственно существует потребность в разработке мультиспецифических антител, эффективных при лечении рака, например, множественной миеломы.

### **Раскрытие изобретения**

Техническая проблема.

Представлено биспецифическое антитело к антигену созревания В-клеток (ВСМА)/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент.

Представлена фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них.

Представлен способ предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, у индивидуума.

Представлено биспецифическое антитело к антигену созревания В-клеток (ВСМА)/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в предупреждении или лечении заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них.

Техническое решение.

Далее будет приведена подробная ссылка на примерные варианты осуществления, которые проиллюстрированы на прилагаемых графических материалах, на которых одинаковые ссылочные позиции по всему документу относятся к одинаковым элементам. В этом отношении представленные примерные варианты осуществления могут иметь различные формы и не должны рассматриваться как ограничивающие описания, изложенные в данном документе. Соответственно примерные варианты осуществления просто описаны ниже со ссылками на графические материалы для пояснения аспектов настоящего изобретения. Используемый в данном документе термин "и/или" включает любые и все комбинации одного или нескольких связанных перечисленных элементов. Такие выражения, как "по меньшей мере один из", когда они предшествуют перечню элементов, изменяют весь перечень элементов и не изменяют отдельные элементы перечня.

В соответствии с аспектом настоящего изобретения биспецифическое антитело к антигену созревания В-клеток (ВСМА)/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент.

Термин "антитело" взаимозаменяемо используют с термином "иммуноглобулин (Ig)". Полное антитело имеет структуру, включающую две полноразмерные легкие цепи и две полноразмерные тяжелые цепи, которые соединены дисульфидными (SS) связями. Антитело может представлять собой, например, IgA, IgD, IgE, IgG или IgM. Антитело может быть моноклональным антителом или поликлональным антителом. Антитело может быть антителом животного происхождения, химерным антителом мыши-человека, гуманизированным антителом или человеческим антителом.

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" относится к фрагменту полной структуры иммуноглобулина, который может быть частью полипептида, в том числе антигенсвязывающим сайтом. Например, антигенсвязывающий фрагмент может представлять собой scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, Fab', Fv F(ab')<sub>2</sub> или их комбинацию.

Существует пять типов тяжелых цепей, обозначаемых  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$  и  $\epsilon$ . Тип тяжелой цепи определяет класс антитела. Каждая цепь тяжелых цепей  $\alpha$  и  $\gamma$  типов состоит из примерно 450 аминокислот, тогда как каждая цепь  $\mu$  и  $\epsilon$  состоит из примерно 550 аминокислот. Каждая тяжелая цепь имеет две области, т.е. переменную область и константную область.

Существует два типа легких цепей, обозначаемых  $\lambda$  и  $\kappa$ . Каждая легкая цепь состоит из примерно 211-217 аминокислот. Каждое антитело человека содержит только один тип легкой цепи. Каждая легкая цепь содержит два последовательных домена, в том числе одну константную область и одну переменную область.

Переменная область относится к области антитела, которая связывается с антигеном.

Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно модифицировать. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно модифицированы путем конъюгирования или связывания, гликозилирования, прикрепления метки или их комбинации. Антитело может быть конъюгировано с другими лекарственными средствами, как, например, противораковым лекарственным средством. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть конъюгированы с пероксидазой хрена (HRP), щелочной фосфатазой, гаптеном, биотином, стрептавидином, флуоресцентным материалом, радиоактивным материалом, квантовыми точками, полиэтиленгликолем (ПЭГ), гистиридиновой меткой или их комбинацией. Флуоресцентный материал может представлять собой ALEXA FLUOR®532, ALEXA FLUOR®546, ALEXA FLUOR®568, ALEXA FLUOR®680, ALEXA FLUOR®750, ALEXA FLUOR®790 или ALEXA FLUOR™350.

Антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент.

Антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент могут включать переменную область тяжелой цепи, включающую по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10-21, переменную область легкой цепи, включающую по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22-32 и 54-64, или переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи.

Антитело к 4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент могут включать переменную область тяжелой цепи, включающую по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 81-91, переменную область легкой цепи, включающую по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 92-97, или переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи.

Переменная область тяжелой цепи антитела к ВСМА или его антигенсвязывающего фрагмента может включать определяющую комплементарность область-H1 (CDR-H1), включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10-13; CDR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 14-17; и CDR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18-21. Термин "определяющая комплементарность область (CDR)" относится к сайту переменной области антитела, который придает специфичность связывания антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с антигеном.

Переменная область легкой цепи антитела к ВСМА или его антигенсвязывающего фрагмента может включать определяющую комплементарность область-L1 (CDR-L1), включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22-25 и 54-62; и CDR-L2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 26-28; и CDR-L3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-32, 63 и 64.

Антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть выбраны из группы, состоящей из

(1) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18;

(2) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19;

(3) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; и

(4) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся





тельностью SEQ ID NO: 90; и

(5) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 83, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 91.

Антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть выбраны из группы, состоящей из

(1) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-L1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92, CDR-L2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94, а также CDR-L3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 96; и

(2) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-L1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93, CDR-L2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 95, а также CDR-L3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 97.

Антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть выбраны из группы, состоящей из

(1) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-L1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92, CDR-L2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94, а также CDR-L3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 96; и

(2) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-L1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93, CDR-L2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 95, а также CDR-L3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 97.

Антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент могут включать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 73-80.

4-1ВВ может представлять собой полипептид 4-1ВВ или его фрагмент. 4-1ВВ может также называться CD137, CDw137, ILA, представителем 9 надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF9) или представителем 9 надсемейства рецепторов TNF. Полипептид 4-1ВВ может включать аминокислотную последовательность под номером доступа в GenBank NP\_001552 (человек) или аминокислотную последовательность под номером доступа в GenBank NP\_001070976, NP\_001070977 или NP\_035742 (мышь). Полипептид ВСМА может включать аминокислотную последовательность, кодируемую полинуклеотидом под номером доступа в GenBank NM\_001561 (человек) или под номером доступа в GenBank NM\_001077508, NM\_001077509 или NM\_011612 (мышь). Фрагмент может представлять собой полипептид, содержащий любую часть аминокислотной последовательности полипептида 4-1ВВ.

Антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент могут характеризоваться аффинностью к полипептиду 4-1ВВ или его фрагменту, с обеспечением таким образом специфического связывания с 4-1ВВ. Антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент способны усиливать иммунный ответ и/или обеспечивать лечение опухоли (рака) у млекопитающего. Антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент характеризуется локализацией и/или активацией только в микроокружении опухоли (ТМЕ) и/или значительным снижением гепатотоксичности по сравнению с ранее существовавшими антителами к 4-1ВВ при сохранении эффективности усиления иммунного ответа и/или обеспечения лечения опухоли.

Биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент.

В биспецифическом антителе к ВСМА/4-1ВВ или его антигенсвязывающем фрагменте каждое из антитела к ВСМА или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к 4-1ВВ или его антигенсвязывающего фрагмента независимо представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело или человеческое антитело.

В биспецифическом антителе один из нацеливающегося на ВСМА фрагмента и нацеливающегося на 4-1ВВ фрагмента может представлять собой полноразмерное антитело, а другое может представлять собой антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv), содержащий CDR тяжелой цепи, CDR легкой цепи или их комбинацию. Полноразмерное антитело, нацеливающееся на один из белков ВСМА и 4-1ВВ, и антигенсвязывающий фрагмент, нацеливающийся на другой белок, могут быть химически связаны (например, ковалентно связаны) непосредственно или посредством пептидного линкера. Антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv) может быть связан непосредственно или посредством пептидного линкера с N-концом полноразмерного антитела (например, с N-концом легкой цепи или тяжелой цепи полноразмерного антитела), С-концом полноразмерного антитела (например, С-концом тяжелой цепи (или домена Fc или CH3) полноразмерного антитела) или обоими этими концами (см. фиг. 1).

Биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ или антигенсвязывающий фрагмент может дополнительно включать по меньшей мере один пептидный линкер. Термин "пептидный линкер" может вклю-

чать любые аминокислоты от 1 до 100, в частности от 2 до 50, и любые типы аминокислот могут быть включены без каких-либо ограничений. Пептидный линкер может включать пептид с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 98 и SEQ ID NO: 99.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело может содержать полноразмерное антитело к ВСМА, антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv) антитела к 4-1BB и пептидный линкер между ними. В другом варианте осуществления биспецифическое антитело может содержать полноразмерное антитело к 4-1BB, антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv) антитела к ВСМА и пептидный линкер между ними.

В биспецифическом антителе к ВСМА/4-1BB или его антигенсвязывающем фрагменте антитело может представлять собой IgA, IgD, IgE, IgG или IgM. Антитело может быть моноклональным антителом или поликлональным антителом. Антигенсвязывающий фрагмент может представлять собой scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или их комбинацию. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент модифицированы путем конъюгирования или связывания, гликозилирования, прикрепления метки или их комбинации.

В одном варианте осуществления scFv, содержащийся в биспецифическом антителе, может содержать переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи в любом порядке. Например, scFv, содержащийся в биспецифическом антителе, может содержать переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи в направлении от N-конца к C-концу и необязательно пептидный линкер между ними, или, в качестве альтернативы, scFv, содержащийся в биспецифическом антителе может содержать переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи в направлении от N-конца к C-концу и необязательно пептидный линкер между ними.

Биспецифическое антитело к ВСМА/4-1BB или антигенсвязывающий фрагмент могут быть представлены в форме IgG-scFv, триамаба, IgG с выступами во впадины (kih) с общей легкой цепью, кросс-маба, IgG с орто-Fab, иммуноглобулина с двойным переменным доменом (DVD-Ig), 2 в 1-IgG, scFv2-Fc, би-наноантитела, биспецифического активатора Т-клеток (BiTE), tandAb, антитела с двойной аффинностью (DART) с перенаправлением, DART-Fc, scFv-человеческий сывороточный альбумин (HSA)-scFv, (DNL)-Fab3 док-и-замок, минителя, scFv-Fc, scFv-молнии, scFv, Fab, Fab2 (биспецифический), Fab3 (триспецифический), scFab, Bis-scFv (биспецифический), sdAb (VH/VHH), тетратела, триатела, диатела, Ig верблюда, IgNAR, IgG, биспецифической конструкции, содержащей выступ во впадину, биспецифической конструкции, содержащей диателу, четырехвалентного мультиспецифического антитела, четырехвалентной конструкции, четырехвалентной конструкции с двойным переменным доменом (DVD), четырехвалентной конструкции IgGscv, четырехвалентной конструкции Mbatrup или составного антитела или их комбинации.

Биспецифическое антитело к ВСМА/4-1BB или антигенсвязывающий фрагмент может активировать передачу сигналов с участием 4-1BB в зависимости от экспрессии ВСМА на поверхности клеток.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1BB или обоими из них, включает биспецифическое антитело к ВСМА/4-1BB или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вышеописанных вариантов осуществления и фармацевтически приемлемый носитель.

ВСМА, 4-1BB, биспецифическое антитело к ВСМА/4-1BB и антигенсвязывающий фрагмент являются такими же, которые описаны выше.

Заболевание, связанное с ВСМА, 4-1BB или обоими из них, может представлять собой рак. Рак может представлять собой солидный рак или несолидный рак. Виды солидного рака относятся к заболеваемости раковыми опухолями в солидных органах, таких как печень, легкие, молочная железа или кожа, тогда как виды несолидного рака относятся к видам рака, поражающим кровь, и поэтому называются раком крови. Например, рак может быть выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака кожи, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, рака легкого, рака толстой кишки, колоректального рака, рака желудка, рака яичника, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака матки, рака печени, рака почки, светлоклеточной саркомы, меланомы, цереброспинальных опухолей, рака головного мозга, тимомы, мезотелиомы, рака пищевода, рака желчевыводящих путей, рака яичка, зародышевого рака, рака щитовидной железы, рака паращитовидной железы, рака шейки матки, рака эндометрия, лимфомы, миелодиспластических синдромов (МДС), миелофиброзов, острого лейкоза, хронического лейкоза, множественной миеломы, болезни Ходжкина, эндокринного рака и саркомы.

Термин "предупреждение" относится к любому действию, которое подавляет или отсрочивает начало заболевания, связанного с ВСМА, 4-1BB или обоими из них, путем введения фармацевтической композиции. Термин "лечение" относится к любому действию, которое облегчает симптомы заболевания, связанного с ВСМА, 4-1BB или обоими из них, путем введения фармацевтической композиции.

Фармацевтическая композиция может включать фармацевтически приемлемый носитель. Носитель может пониматься как вспомогательное вещество, разбавитель или адъювант. Например, носитель может быть выбран из группы, состоящей из лактозы, декстрозы, сахарозы, сорбита, маннита, ксилита, эритрита, мальтита, крахмала, каучука акации, альгината, желатина, фосфата кальция, силиката кальция, целлюлозы, метилцеллюлозы, поливинилпирролидона, воды, физиологического раствора, буфера, как, на-

пример, фосфатно-солевого буфера (PBS), метилгидроксibenзоата, пропилгидроксibenзоата, талька, стеарата магния, глицина, гистидина, серина, полисорбата и минерального масла. Фармацевтическая композиция может включать наполнитель, антикоагулянт, смазывающее вещество, смачивающее средство, ароматизатор, эмульгатор, консервант или их комбинацию.

Фармацевтическая композиция может быть составлена в любой форме с использованием любого распространенного в уровне техники способа. Например, фармацевтическая композиция может быть составлена в виде дозированной формы для перорального введения (например, порошки, таблетки, капсулы, сиропы, пилюли или гранулы) или лекарственной формы для парентерального введения (например, для инъекций). Фармацевтическая композиция может быть получена в составе для системной доставки или в составе для местной доставки.

Фармацевтическая композиция может дополнительно включать противораковое лекарственное средство. Противораковое лекарственное средство может представлять собой цетуксимаб, панитумумаб, эрлотиниб, gefитиниб, трастузумаб, T-DM1, пертузумаб, лапатиниб, паклитаксел, тамоксифен, цисплатин, антитело к CTLA-4, антитело к PD-1, антитело к PD-L1, 5-фторурацил (5FU), гемцитабин или их комбинацию. Фармацевтическая композиция может включать одну композицию или отдельные композиции. Например, биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент фармацевтической композиции может представлять собой композицию в лекарственной форме для парентерального введения, а противораковое лекарственное средство может представлять собой композицию в лекарственной форме для перорального введения.

Фармацевтическая композиция может включать эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, противораковое лекарственное средство или их комбинацию. Используемый в данном документе термин "эффективное количество" относится к количеству, достаточному для предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, при введении индивидууму, нуждающемуся в таком предупреждении или лечении. Эффективное количество может быть соответствующим образом выбрано специалистом в данной области в зависимости от выбранной клетки или индивидуума. Например, эффективное количество может быть определено в зависимости от тяжести заболевания, возраста пациента, массы тела, состояния здоровья, пола, чувствительности пациента к лекарственным средствам, продолжительности введения, пути введения, скорости выведения, продолжительности лечения и других факторов, в том числе применение лекарственного средства в комбинации с фармацевтической композицией или одновременно с ней, и другие факторы, известные в области медицины. Эффективное количество может составлять от приблизительно 0,5 мкг до приблизительно 2 г фармацевтической композиции.

Доза фармацевтической композиции может составлять, например, от приблизительно 0,001 мкг/кг до приблизительно 100 мкг/кг при введении взрослому человеку. Количество введений может составлять, например, от одного или нескольких раз в день, от одного раза в неделю до одного раза в четыре недели или от одного до двенадцати раз в год.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения способ предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, у индивидуума включает введение биспецифического антитела к ВСМА/4-1ВВ или антигенсвязывающего фрагмента по любому из вышеописанных вариантов осуществления индивидууму.

ВСМА, 4-1ВВ, биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ, антигенсвязывающий фрагмент, предупреждение и лечение такие же, как описаны выше.

Индивидуум может представлять собой млекопитающее, например человека, обезьяну, корову, лошадь, свинью, собаку, овцу, козу или кошку. Индивидуум может представлять индивидуума, который страдает заболеванием, связанным с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, или который восприимчив к заболеванию, которое может представлять собой рак.

Способ может дополнительно включать введение противоракового лекарственного средства индивидууму, нуждающемуся в этом. Противораковое лекарственное средство можно вводить одновременно, отдельно или последовательно с биспецифическим антителом к ВСМА/4-1ВВ или его антигенсвязывающим фрагментом в соответствии с любым из описанных выше примерных вариантов осуществления.

Например, биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент, противораковое лекарственное средство или их комбинация могут быть непосредственно введены индивидууму любым способом, например с помощью перорального, внутривенного, внутримышечного, чрескожного, слизистого, интраназального, внутритрахеального или подкожного введения. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, противораковое лекарственное средство или их комбинацию можно вводить системно или местно. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, противораковое лекарственное средство или их комбинацию можно вводить отдельно или вместе с фармацевтически активным соединением.

Доза биспецифического антитела к ВСМА/4-1ВВ или его антигенсвязывающего фрагмента, противоракового лекарственного средства или их комбинации может варьироваться в зависимости от состояния пациента, массы тела, тяжести заболевания, состава лекарственного средства, пути введения и продолжительности введения и могут быть надлежащим образом выбраны специалистом в данной области.

Например, доза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, противоракового лекарственного средства или их комбинации может составлять от приблизительно 0,001 мкг/кг до приблизительно 100 мкг/кг при введении взрослому человеку. Количество введений может составлять, например, от одного или нескольких раз в день, от одного раза в неделю до одного раза в четыре недели или от одного до двенадцати раз в год.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предусмотрено биспецифическое антитело к антигену созревания В-клеток (BCMA)/4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с любым из вышеописанных вариантов осуществления для применения в предупреждении или лечении заболевания, связанного с BCMA, 4-1BB или обоими из них.

BCMA, 4-1BB, биспецифическое антитело к BCMA/4-1BB, антигенсвязывающий фрагмент, предупреждение, лечение и заболевание, связанное с BCMA, 4-1BB или обоими из них являются такими же, как описаны выше.

Благоприятные эффекты.

Как описано выше, согласно одному или нескольким иллюстративным вариантам осуществления предложено биспецифическое антитело к BCMA/4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент, а также их применение. Биспецифическое антитело к BCMA/4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент можно эффективно применять для предупреждения или лечения заболевания, связанного с BCMA, 4-1BB или обоими из них.

### Описание графических материалов

Эти и/или другие аспекты станут очевидными и более понятными из следующего описания примерных вариантов осуществления в сочетании с прилагаемыми графическими материалами, на которых представлено следующее.

На фиг. 1 представлена схематическая диаграмма биспецифического антитела согласно варианту осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 2a-2c представлены графики, демонстрирующие результаты теста на связывание с целевым белком с применением DACE, а на фиг. 2d-2f представлены графики, демонстрирующие результаты теста на связывание с клеточной поверхностью с применением системы FACS.

На фиг. 3a-3d представлены графики, демонстрирующие результаты репортерного биологического анализа 4-1BB.

На фиг. 4a-4c представлены графики, демонстрирующие результаты исследования с использованием РВМС.

На фиг. 5a представлены графики, демонстрирующие результаты теста на связывание с целевым белком с применением DACE (5D5 WT и мутанты 5D5), на фиг. 5b представлены графики, демонстрирующие результаты теста на связывание с целевым белком с применением DACE (5A6 WT и мутанты 5A6), на фиг. 5c представлен график, демонстрирующий результаты теста на связывание с целевым белком с применением DACE (WT и мутанты), а на фиг. 5d представлены графики, демонстрирующие результаты теста на связывание с клеточной поверхностью с применением системы FACS (WT и мутанты).

На фиг. 6a-6c представлены графики, демонстрирующие результаты теста активации 4-1BB *in vitro*.

На фиг. 7 представлен график, демонстрирующий результаты теста перекрестной реактивности на обезьянах с помощью DACE.

На фиг. 8a-8c представлены графики, демонстрирующие ингибирование роста опухоли посредством биспецифического антитела BCMAx4-1BB у гуманизированных мышей NOG, несущих H929.

На фиг. 9a представлены изображения, демонстрирующие инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL), а на фиг. 9b представлены графики, демонстрирующие результаты анализа инфильтрирующих опухоль лимфоцитов.

На фиг. 10a и 10b представлены графики, демонстрирующие отдельные результаты (n=3) и результаты суммирования (n=3) фармакокинетики биспецифических антител к BCMA/4-1BB у яванского макака соответственно.

На фиг. 11 представлены графики, демонстрирующие профиль роста опухоли при введении биспецифических антител к BCMA/4-1BB (\* P<0,05; \*\* P<0,01).

### Принцип изобретения

Один или несколько вариантов осуществления настоящего изобретения будут подробно описаны со ссылкой на следующие примеры. Однако эти примеры предназначены только для иллюстративных целей и не предназначены для ограничения объема одного или нескольких вариантов осуществления настоящего изобретения.

Пример 1. Получение моноклональных антител к BCMA.

1-1. Получение антигена.

Антигены для получения антител к BCMA получали следующим образом. Полипептиды, содержащие аминокислотные остатки 5-54, 1-51, 1-54 и 4-48 соответственно, с N-конца аминокислотной последовательности BCMA человека (номер доступа в GenBank NP\_001183.2, SEQ ID NO: 1) использовали в качестве антигенов.

В частности, антиген, содержащий аминокислотные остатки 5-54 человеческого BCMA (GEN-

SCRIPT®, Z02731) ("человеческий ВСМА (5-54)"); антиген, содержащий аминокислотные остатки 1-51 человеческого ВСМА (полученный в собственной лаборатории, экспрессированный в клетках CHO), слитые с Fc-областью человеческого IgG1 ("человеческий ВСМА-Fc (1-51)"); антиген, содержащий аминокислотные остатки 1-54 человеческого ВСМА, слитые с Fc-областью, и His-метку на его C-конце (10620-H03H, Sino Biological Inc.) ("человеческий ВСМА-Fc/His (1-54)"); и антиген, содержащий аминокислотные остатки 4-48 человеческого ВСМА (полученный в собственной лаборатории, экспрессированный в клетках HEK293), слитые с Fc-областью ("человеческий ВСМА-Fc (4-48)").

Человеческий ВСМА-Fc (4-48) получали следующим образом. Полинуклеотиды, кодирующие аминокислотные остатки 4-48 ВСМА человека, клонировали в pAB1-Fc, который представляет собой вектор экспрессии клеток животных, включающий промотор CMV. Клонированный вектор трансформировали в клетки HEK293E, и человеческий ВСМА-Fc (4-48) очищали с помощью аффинной хроматографии с белком А. Человеческий ВСМА-Fc (1-51) получали так же, как описано выше.

1-2. Получение фаговой библиотеки и сортировка фагового дисплея.

Клетки фаговой библиотеки с одноцепочечными варибельными фрагментами (ScFv) человеческого происхождения (Mol. Cells OT, 225-235, February 28, 2009), которые способны связываться с различными антигенами. Полученную фаговую библиотеку инфицировали фагом-хелпером, а затем индуцировали упаковку фагов. После этого продукт культивирования центрифугировали при 4500 об/мин в течение 15 мин при 4°C, а затем в супернатант добавляли 4% (вес/объем) ПЭГ 6000 (Fluka, 81253) и 3% (вес/объем) NaCl (Sigma, S7653) и хорошо растворяли с последующей инкубацией на льду в течение 1 ч. Полученный продукт центрифугировали при 4°C при 8000 об/мин в течение 20 мин, осадки суспендировали в PBS, а затем снова центрифугировали при 4°C при 12000 об/мин в течение 10 мин для получения супернатанта, содержащего библиотечный фаг. Полученный библиотечный фаг перед использованием хранили при 4°C.

Сортировку выполняли в общей сложности три раза следующим образом для скрининга антител, которые реагируют с человеческим ВСМА или перекрестно реагируют с человеческим ВСМА и ВСМА обезьяны. 5 мкл антигена, полученного в соответствии с примером 1-1, добавляли в иммунопробирку (maxisorp 444202) и инкубировали при 4°C в течение 16 ч для покрытия поверхности пробирки белком. Супернатант удаляли и добавляли бычий сывороточный альбумин (BSA) для блокирования неспецифического связывания.

$10^{12}$  КОЕ фаговой библиотеки, полученных в соответствии с примером 1-2, смешивали с 1,5% (масса/объем) BSA, и смесь добавляли в пробирку для иммунологического анализа, покрытую целевым белком, и подвергали реакции при 37°C в течение 1 ч, чтобы обеспечить связывание специфического в отношении ВСМА фага с целевым белком. Впоследствии, после многократного промывания раствором PBS-T (забуференный фосфатом солевой раствор, включающий 0,05% (об./об.) Tween 20), фаги, связанные с ВСМА, извлекали с использованием 100 мМ раствора триэтиламина. Восстановленные фаги нейтрализовали 1 М трис-буфером (pH 7,4), затем их инфицировали K12 ER2738 Escherichia coli, и фаги снова выделяли. Этот цикл, включающий целевое связывание, элюирование, нейтрализацию, инфицирование и выделение, повторяли четыре раза. По мере прохождения раунда сортировки количество процессов промывки с использованием PBS-T увеличивали для амплификации и концентрации антигенспецифического фага.

1-3. Скрининг фаговых антител с одним клоном.

Была проведена процедура скрининга одного клона фагового антитела для выбора из фагового пула моноклонального антитела, которое специфически связывается с ВСМА.

В частности, фаговый пул, полученный в соответствии с примерами 1-2, последовательно разбавляли и культивировали на твердой среде, содержащей LB-тетрацилин/кабенициллин, для получения одиночных колоний. Каждую колонию культивировали на 96-луночной планшете так, чтобы OD600 составляла от 0,5 до 0,7. В каждую лунку добавляли 20 МОИ вспомогательного фага и обеспечивали проведение реакции при 37°C в течение 1 ч. После этого в каждую лунку добавляли канамицин и инкубировали в течение ночи при 30°C. На следующий день культуру центрифугировали и собирали ее супернатант, а затем проводили ELISA для отбора специфических в отношении ВСМА фагов. Каждую лунку планшета для ELISA покрывали 100 нг рекомбинантного ВСМА, а затем инкубировали с PBS-B (3% BSA, содержащим PBS) для предупреждения неспецифического связывания. После этого планшет промывали с помощью PBS. Полученный одиночный клон фага добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C в течение 1 ч, после чего планшет трижды промывали PBS-T. Для обнаружения связанных фагов в каждую лунку добавляли антитело к гемагглютининому (HA), конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP). После стадии промывки с помощью PBS-T добавляли тетраметилбензидин (TMB, Sigma, T0440). Отбирали клоны, которые имеют поглощение 0,5 или более при длине волны 450 нм, а также поглощение по меньшей мере в 5 раз выше, чем у контроля с одним только HRP к HA. Были отобраны четыре клона антител (B58, B5, D5 и A6), которые специфически связываются с человеческим ВСМА.

Из нуклеотидных последовательностей, кодирующих выбранные антитела, аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи (SEQ ID NO: 2-5) и аминокислотные последовательности варибельной области легкой цепи (SEQ ID NO: 6-9) анализировали и определяющие комплемен-

тарность области (CDR) определяли в соответствии с определением Kabat. Определенные аминокислотные последовательности CDR (N→C) тяжелых цепей и легких цепей показаны в табл. 1 и 2 соответственно.

Таблица 1

Антитело	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
B58	NYDMS (SEQ ID NO: 10)	WIYPSDSSIYADSVKG (SEQ ID NO: 14)	RGPFANKYRQFDY (SEQ ID NO: 18)
5B5	GHYWS (SEQ ID NO: 11)	TVSGSGGDTFYADSVKG (SEQ ID NO: 15)	RGHSVMDV (SEQ ID NO: 19)
5D5	DYGLSE (SEQ ID NO: 12)	LIDSSGSSTFYADSVKG (SEQ ID NO: 16)	KEHGLFDS (SEQ ID NO: 20)
5A6	NYGVH (SEQ ID NO: 13)	YISYSGGTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 17)	RSDDDFGFDY (SEQ ID NO: 21)

Таблица 2

Антитело	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
B58	SGSSSNIGSNSVS (SEQ ID NO: 22)	ADSKRPS (SEQ ID NO: 26)	GSWDYLSLGYV (SEQ ID NO: 29)
5B5	RASQGIDSYVA (SEQ ID NO: 23)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQYNSWPI (SEQ ID NO: 30)
5D5	KASQDIDDIN (SEQ ID NO: 24)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)
5A6	QGDSLRSYYVN (SEQ ID NO: 25)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDSSTV (SEQ ID NO: 32)

Нуклеотидные последовательности, кодирующие переменные области тяжелой цепи, и нуклеотидные последовательности, кодирующие переменные области легкой цепи, показаны в табл. 3 ниже.

Таблица 3

Антитело	Нуклеотидная последовательность, кодирующая переменную область тяжелой цепи	Нуклеотидная последовательность, кодирующая переменную область легкой цепи
B58	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 37
5B5	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 38
5D5	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 39
5A6	SEQ ID NO: 36	SEQ ID NO: 40

#### 1-4. Получение антител IgG к ВСМА из выбранных фагов к ВСМА.

Синтезировали полинуклеотиды, имеющие нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, выбранные согласно примерам 1-3. Полученные полинуклеотиды клонировали в векторы культуры клеток животных (вектор экспрессии тяжелой цепи: pAB1-HC и вектор экспрессии легкой цепи: pAB1-LC). Всего было получено 8 векторов, содержащих полинуклеотиды, кодирующие тяжелые и легкие цепи для каждого из четырех клонов антител (B58, 5A6, 5D5 и 5B5). Каждый из полученных векторов для pAB1-HC содержал последовательность типа IgG1.

Клетки CHO-S культивировали в среде CD-CHO (Gibco, 10743) и полученные векторы вводили в клетки CHO-S с использованием полиэтиленimina (PEI). Трансдуцированные клетки CHO-S культивировали в среде CD-CHO в течение приблизительно 7 дней при 8% CO<sub>2</sub>, при 37°C при встряхивании (110 об/мин).

После сбора культивированного супернатанта его пропускали через колонку MabSelect SuRe (GE Healthcare, 5 мл), уравновешенную уравновешивающим буфером (50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 100 mM NaCl) для обеспечения связывания экспрессируемого антитела с колонкой. Антитело элюировали раствором 50 mM Na-цитрата (pH 3,4) и 100 mM NaCl, а затем нейтрализовали с помощью 1 M Tris-HCl (pH 9,0) до получения конечного pH 7,2. Затем буфер заменяли PBS (pH 7,4), а антитела IgG к ВСМА B58, 5A6, 5D5 и 5B5 хранили при 4°C до использования.

#### 1-5. Получение мутаций 5A6 и 5D5.

Для повышения продуктивности выбранных антител 5A6 и 5D5 получали мутированные антитела в соответствии с последовательностями нуклеотидов в табл. 3 путем мутации одного или двух аминокислотных остатков в CDR легкой цепи антитела.

Аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 мутантных антител 5D5 и мутантных антител 5A6 показаны в табл. 4 и 5 соответственно. В табл. 4 и 5 выделенные подчеркиванием и жирным шрифтом аминокислотные остатки представляют собой мутантные компоненты (WT: дикий

тип, LM: мутанты легкой цепи). Вариабельные области легкой цепи мутантных антител 5D5 и мутантных антител 5A6 имеют аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 41-45 и SEQ ID NO: 46-53 соответственно.

Таблица 4

Антитело	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
5D5 WT	KASQDIDDDIN (SEQ ID NO: 24)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)
5D5 M1	KASQDIDNDIN (SEQ ID NO: 54)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)
5D5 M2	KASQDIDEDIN (SEQ ID NO: 55)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)
5D5 M3	KASQDIDADIN (SEQ ID NO: 56)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)
5D5 M4	KASQDIDDAIN (SEQ ID NO: 57)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)
5D5 M5	KASQDIDDEIN (SEQ ID NO: 58)	DASLRAT (SEQ ID NO: 27)	QQSLRTP (SEQ ID NO: 31)

Таблица 5

Антитело	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
5A6 WT	QGDSLRSYYVN (SEQ ID NO: 25)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDSSTV (SEQ ID NO: 32)
5A6 M1	QGESLRSYYVN (SEQ ID NO: 59)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDSSTV (SEQ ID NO: 32)
5A6 M2	QGDALRSYYVN (SEQ ID NO: 60)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDSSTV (SEQ ID NO: 32)
5A6 M3	QGDSLRSYYVN (SEQ ID NO: 25)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYESSTV (SEQ ID NO: 63)
5A6 M4	QGDSLRSYYVN (SEQ ID NO: 25)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDASTV (SEQ ID NO: 64)
5A6 M5	QGESLRSYYVN (SEQ ID NO: 61)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYESSTV (SEQ ID NO: 63)
5A6 M6	QGESLRSYYVN (SEQ ID NO: 61)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDASTV (SEQ ID NO: 64)
5A6 M7	QGDALRSYYVN (SEQ ID NO: 62)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYESSTV (SEQ ID NO: 63)
5A6 M8	QGDALRSYYVN (SEQ ID NO: 62)	DHSKRPT (SEQ ID NO: 28)	QSYDASTV (SEQ ID NO: 64)

Пример 2. Получение моноклональных антител к 4-1BB.

2-1. Скрининг полных моноклональных антител человека к 4-1BB (сортировка иммунопробирок фаговой библиотеки).

Для сортировки библиотеки в отношении целевых молекул было проведено в общей сложности четыре раунда сортировки с использованием иммунопробирок, покрытых 4-1BB.

Бактериальные колонии из 3<sup>го</sup> цикла сортировки выращивали в среде SB, содержащей карбенициллин, в 96-луночной планшете до помутнения, после чего в каждую лунку добавляли 10<sup>11</sup> КОЕ вспомогательных фагов VCSM13. После 1-часового инфицирования при 37°C при осторожном встряхивании (80 об/мин) добавляли 70 мкг/мл канамицина и клетки культивировали в течение ночи при 30°C при встряхивании при 200 об/мин.

На следующий день планшеты центрифугировали и супернатанты, содержащие фаги, добавляли в планшеты для ELISA, покрытые антигеном 4-1BB, заблокированные 3% (вес/объем) BSA в PBST. После 1-часовой инкубации при комнатной температуре планшеты трижды промывали с помощью PBST и добавляли антитело к M13. Планшеты инкубировали в течение 1 ч, трижды промывали с помощью PBST и измеряли активность связывания с использованием тетраметилбензидина (ТМБ).

Специфические в отношении 4-1BB антитела амплифицировали для секвенирования плазмидной ДНК. Области вариабельности тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL) анализировали для идентификации уникальных последовательностей и определения разнообразия последовательностей. Были отобраны три клона антител (41B01, 41B02 и AB41), которые специфически связываются с человеческим 4-1BB.

Мутанты 41B01 M4, 41B01 M11, 41B01 M12, 41B01 M13 и 41B02 M1 получали из выбранных антител, как описано в примерах 1-5.

Из нуклеотидных последовательностей, кодирующих выбранные антитела, аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи антитела (SEQ ID NO: 65-72) и аминокислотные последовательности варибельной области легкой цепи (SEQ ID NO: 73-80) анализировали и определяли CDR в соответствии с определением Kabat. Определенные аминокислотные последовательности CDR (N→C) тяжелых цепей и легких цепей показаны в табл. 6 и 7 соответственно.

Таблица 6

Антитело	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
41B01	SYDMS (SEQ ID NO: 81)	WISYSGGSIYYADSVKG (SEQ ID NO: 84)	DGQRNSMREFDY (SEQ ID NO: 87)
41B01 M4	SYDMS (SEQ ID NO: 81)	WISYSGGSIYYADSVKG (SEQ ID NO: 84)	DAQRNSMREFDY (SEQ ID NO: 88)
41B01 M11	SYDMS (SEQ ID NO: 81)	WISYSGGSIYYADSVKG (SEQ ID NO: 84)	DAQRQSMREFDY (SEQ ID NO: 89)
41B01 M12	SYDMS (SEQ ID NO: 81)	WISYSGGSIYYADSVKG (SEQ ID NO: 84)	DAQRNSMREFDY (SEQ ID NO: 88)
41B01 M13	SYDMS (SEQ ID NO: 81)	WISYSGGSIYYADSVKG (SEQ ID NO: 84)	DAQRQSMREFDY (SEQ ID NO: 89)
41B02	GYDMS (SEQ ID NO: 82)	VIYPDDGNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 85)	HGGQEPTTESSAYGMDG (SEQ ID NO: 90)
41B02 M1	GYDMS (SEQ ID NO: 82)	VIYPDDGNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 85)	HGGQKPTTKSSAYGMDG (SEQ ID NO: 90)
AB41	SYWMH (SEQ ID NO: 83)	EINPGNGIITNYNEKFKS (SEQ ID NO: 86)	SFTTARAFAY (SEQ ID NO: 91)

Таблица 7

Антитело	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
411501	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
41B01 M4	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
41B01 M11	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
41B01 M12	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
41B01 M13	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
41B02	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
41B02 M1	SGSSSNIGNNNYVT (SEQ ID NO: 92)	ADSHRPS (SEQ ID NO: 94)	ATWDYSLSGYV (SEQ ID NO: 96)
AB41	RASQTISDY LH (SEQ ID NO: 93)	YASQSIG (SEQ ID NO: 95)	QDGHSFPPT (SEQ ID NO: 97)

## 2-2. Антигенсвязывающие способности антител к 4-1BB в отношении человеческого 4-1BB.

### (1) Связывание антигена, измеренное с помощью ELISA.

Для оценки антигенсвязывающей активности кандидатные антитела подвергали тесту ELISA. Вкратце планшеты для микротитрования покрывали человеческим белком 4-1BB-Fc в концентрации 0,1 мкл/мл в PBS до 100 мкл/лунка при 4°C в течение ночи, затем блокировали 100 мкл/лунка 5% (вес/объем) BSA. В каждую лунку добавляли пятикратные разведения гуманизированных антител 41B01 и 41B02, начиная с 10 мкг/мл, и инкубировали в течение 1-2 ч при комнатной температуре. Планшеты промывали с помощью PBS/Tween и затем инкубировали с антителом козы к человеческому IgG, конъюгированном с пероксидазой хрена (HRP), в течение 1 ч при комнатной температуре. После промывки планшеты промывали субстратом TMB и анализировали на спектрофотометре при OD 450-630 нм.

### (2) Связывание клеток, измеренное с помощью FACS.

Для оценки свойства связывания антигена кандидатные антитела анализировали в отношении их связывания с экспрессированным 4-1BB млекопитающих с помощью FACS. Вкратце клетки 4-1BB-Jurkat

инкубировали с антителами (41B01 и 41B02). После промывки буфером FACS (1% (мас./об.) BSA в PBS) в каждую лунку добавляли FITC-антитело к человеческому IgG и инкубировали при 4°C в течение 1 ч. MFI FITC оценивали с помощью FACS Caliber.

(3) Кинетика белка для 4-1BB.

Чтобы исследовать кинетику связывания гуманизированного антитела, в этом примере выполняли ранжирование аффинности с использованием Octet Red 96. Как показано в табл. 8 ниже, 41B01 и 41B02.

Таблица 8

Антитело	KD (M)	кон. (1/мс)	kdis (1/с)	Chi	R2
41B01	1,80F-10	6,58E+05	1,19E-04	0,0392	0,9987
41B02	1,01E-09	5,95E+05	6,03E-04	0,0525	0,9973

Как показано в табл. 8, протестированные антитела к 4-1BB показали высокую аффинность связывания 4-1BB.

Пример 3. Характеристика биспецифических антител к BCMA/4-1BB.

3-1. Получение биспецифических антител к BCMA/4-1BB.

Различные кандидатные биспецифические антитела к BCMA/4-1BB получали в формате полноразмерных IgG (антитело к BCMA)-scFv(антитело к 4-1BB), которые представлены в табл. 9. Константная область антитела к BCMA, содержащаяся в биспецифическом антителе, все же может быть модифицирована путем введения более чем одной мутации или изменения в человеческом IgG1. Например, была введена мутация NA (N297A).

Таблица 9

Биспецифическое антитело	Формат
B58(NA)x41B01	(NA)_(G4S)3_41B01_VH_(G4S)4_41B01_VL
B58(NA)x41B02	(NA)_(G4S)3_41B02_VL_(G4S)4_41B02_VH
B58(NA)xAB41	(NA)_(G4S)3_AB41_VL_(G4S)4_AB41_VH
5A6(NA)x41B01	(NA)_(G4S)3_41B01_VH_(G4S)4_41B01_VL
5A6(NA)x41B02	(NA)_(G4S)3_41B02_VL_(G4S)4_41B02_VH
5A6(NA)xAB41	(NA)_(G4S)3_AB41_VL_(G4S)4_AB41_VH
5D5(NA)x41B01	(NA)_(G4S)3_41B01_VH_(G4S)4_41B01_VL
5D5(NA)x41B02	(NA)_(G4S)3_41B02_VL_(G4S)4_41B02_VH
5D5(NA)xAB41	(NA)_(G4S)3_AB41_VL_(G4S)4_AB41_VH
5B5(NA)x41B01	(NA)_(G4S)3_41B01_VH_(G4S)4_41B01_VL
5B5(NA)x41B02	(NA)_(G4S)3_41B02_VL_(G4S)4_41B02_VH
5B5(NA)xAB41	(NA)_(G4S)3_AB41_VL_(G4S)4_AB41_VH
5D5(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5D5M1(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5D5M2(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5D5M3(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5D5M4(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5D5M5(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M1(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M2(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M3(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M4(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M5(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M6(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M7(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH
5A6M8(NA)x41B01 M12	(NA)_(GS)9_41B01_M12_VL_(G4S)4_41B01_M12_VH

Клоны IgG к BCMA и scFv к 4-1BB, полученные в примере 1 и примере 2 соответственно, были выбраны в качестве примера для получения биспецифических антител к BCMA/4-1BB в форме слияния IgG-scFv, в которых фрагмент антитела scFv одного антигена, слит с C-концом IgG другого антигена. Когда BCMA помещали в часть полного IgG, использовали IgG1 с ADCC, редуцированным мутантным остовом (мутация N297A; Cancer Cell, vol.19, issue 1, p. 101-113 и т.д.), а когда 4-1BB помещали в часть полного IgG, использовали IgG4. Аминокислотные последовательности IgG к BCMA и scFv к 41BB представлены в табл. 10 и 11 соответственно.

Таблица 10

Антитело	Компоненты	Аминокислотная последовательность _HC : Fc(NA)
B58	<b>ВСМА-тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMSWVRQAPGKGLEWVSWIYPSD SSIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPFANKYRQFDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHRKPSNTRVDRKVE PKSCDKHTHTCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 100)
	<b>ВСМА-легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGGRVITISCSGSSNIGSNVSYWYQQLPGTAPKLLIYADSKR PSGVPDRFSGSKSGTSASLAIISGLRSEDEADYYCGSWDYSLSGYVFGGKTLTVL GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET TTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 101)
5B5	<b>ВСМА-тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGHYWSWVRQAPGKGLEWVSTVSGSG GDTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGHSVMDVWVGGGT LVTVSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS VHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHRKPSNTRVDRKVEPKSCD KHTHTCPPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 102)
	<b>ВСМА-легкая цепь</b>	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQGISYVAWYQKPKGAPRLLIYDASLRA TGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYNWPIITFGGQTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 103)

5D5	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGLSWVRQAPGKLEWVSLIDSSG SSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCD KTHITCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALIHNIYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCASQDIDDDINWYQQKPGQAPRLLIYDASLRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSLRTPITFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 105)
5D5M1	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGLSWVRQAPGKLEWVSLIDSSG SSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCD KTHITCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALIHNIYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCASQDIDNDINWYQQKPGQAPRLLIYDASLRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSLRTPITFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 106)

5D5M2	<p><b>ВСМА-тяжелая цепь</b></p>	<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSDYGLSWVRQAPGKGLFWVSLIDSSG SSTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTRGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCD KTHITCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)</p>
	<p><b>ВСМА-легкая цепь</b></p>	<p>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCASQDIDEDINWYQQKPGQAPRLLIYDASLRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQLRTPITFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 107)</p>
5D5M3	<p><b>ВСМА-тяжелая цепь</b></p>	<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSDYGLSWVRQAPGKGLFWVSLIDSSG SSTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTRGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCD KTHITCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)</p>
	<p><b>ВСМА-легкая цепь</b></p>	<p>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCASQDIDADINWYQQKPGQAPRLLIYDASLRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQLRTPITFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 108)</p>

5D5M4	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGLSWVRQAPGKGLFVWSLIDSSG SSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD <sup>W</sup> LNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSYMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCKASQDIDDAINWYQQKPGQAPRLLIYDASLR A TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSLRTPITFGGQTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 109)
5D5M5	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGLSWVRQAPGKGLFVWSLIDSSG SSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD <sup>W</sup> LNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSYMHEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCKASQDIDDEINWYQQKPGQAPRLLIYDASLR A TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSLRTPITFGGQTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 110)
5A6	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKGLFVWSYISYSG GTYYNP SLKSRFTISRDNKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTS

		GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTEVTCVVVDVSHEDPEVKF NYYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGQSLRSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYQCQSYDSSIVVFGGKTLTVLGGPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 112)
5A6M1	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTPSNYGVHWVRQAPGKGLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSRTFISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTEVTCVVVDVSHEDPEVKF NYYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGQSLRSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYQCQSYDSSIVVFGGKTLTVLGGPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 113)
5A6M2	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTPSNYGVHWVRQAPGKGLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSRTFISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTEVTCVVVDVSHEDPEVKF NYYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

		PIEKTISKARGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGDALRSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYCYQSYDSSTVVFVGGGTKLTVLQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 114)
5A6M3	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKGLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC DKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NHWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKARGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGDLSRSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYCYQSYESSTVVFVGGGTKLTVLQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 115)
5A6M4	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKGLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC DKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NHWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKARGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)

	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGDLSLSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDASTVVFVGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPS KQSNKYAASSYLSTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 116)
5A6M5	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC DKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NRYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKARGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHAEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGESLSRSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYESSVTVVFVGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPS KQSNKYAASSYLSTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 117)
5A6M6	<b>ВСМА- тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSFRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC DKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NRYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKARGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHAEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА- легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCGESLSRSYVNWYQQLPGTAPKLLIYDHSKRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDASTVVFVGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPS

		KQSNNKYAASSYL.SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 118)
5A6M7	<b>ВСМА-тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGGQ TLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC DKHTHTCCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NYYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА-легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCQGDALRSYVNWYQQLPGTAPKLLIDHSCRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYESTVTVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNNKYAASSYL.SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 119)
5A6M8	<b>ВСМА-тяжелая цепь</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGVHWVRQAPGKLEWVSYISYSG GTYYNPSLKSRTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSDDFGFDYWGGQ TLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC DKHTHTCCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NYYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
	<b>ВСМА-легкая цепь</b>	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCQGDALRSYVNWYQQLPGTAPKLLIDHSCRPT GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCQSYDASTVTVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNNKYAASSYL.SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 120)

Таблица 11

Антитело	Аминокислотная последовательность (конструкции VL-L-VH)
41B01 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DGQRNSMREFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 121)
41B01 M4 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DAQRNSMREFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 122)
41B01 M11 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLJESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DAQRQSMREFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 123)
41B01 M12 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DAQRNSMREFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 124)
41B01 M13 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DAQRQSMREFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 125)
41B02 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDA AVYYCAK HGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 126)
41B02 M1 scFV	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNI GN NYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGG SGGGSGGGSGGGSEVQLJESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK HGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 127)
AB41 scFV	DIVMTQSPAFLSVTPGKVTITCRASQTS DY LHWYQQKPDQAPKLLIKYASQSI SG IPSRFSGSGSGTDFFTTISLEAEDAATYYCQDGHSPPTFGCGTKLEIKRGGGGSG GGSGGGSGGGSQVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQ CLEWIGEINPGNGHTNYNEKFKSRATLTGDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCAR SF TTARAFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 128)

Сегмент 1 ДНК, имеющий нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь антитела IgG биспецифического антитела к ВСМА/4-1ВВ, встраивали в рсDNA 3.4 (Invitrogen, A14697; плазмида 1), а сегмент 2 ДНК, имеющий нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь антитела IgG биспецифического антитела к ВСМА/4-1ВВ, встраивали в рсDNA 3.4 (Invitrogen, A14697; плазмида 2). После этого сегмент 3 ДНК, кодирующий scFv, подвергали слиянию с частью сегмента 1 ДНК, соответствующей с-концу Fc-области антитела IgG, встроенной в плазмиду 1, с использованием сегмента 4 ДНК, кодирующего линкерный пептид, составляющий 15 аминокислот в длину, состоящий из (GGGS)<sub>4</sub> (SEQ ID NO: 98) или с использованием сегмента 5 ДНК, кодирующего линкерный пептид длиной

18 аминокислот, состоящий из (GS)9 (SEQ ID NO: 99), для конструирования векторов для экспрессии биспецифических антител. Кроме того, чтобы стабилизировать scFv, как описано в примере 2, применяли дополнительную модификацию для создания дисульфидного мостика слияния VL103-VH44 (VL103: VL, имеющий мутацию G→C в положении 103; VH 44: VH, имеющий мутацию G→C в положении 44) к C-концу легкой цепи и C-концу тяжелой цепи соответственно.

Аминокислотные последовательности полученных биспецифических антител представлены в табл. 12.

Таблица 12

Биспецифическое антитело	Компонент			Аминокислотная последовательность	Аминокислотная последовательность биспецифического антитела
	Тяжелый компонент	Тяжелая цепь анти тела к ВСМА	ВСМА-тяжелая цепь (NA)		
5D5M4(NA) x41B01 M12				EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSDYGLSWVRQAPGKG LEWVSLIDSSGSSTFYADSVKVG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCD KTHTCPPCPAPELIGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHINA KTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDNLNGKEYCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFPSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 104)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSDYGLSWVRQAPGKG LEWVSLIDSSGSSTFYADSVKVG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKEHGLFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCD KTHTCPPCPAPELIGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHINA KTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDNLNGKEYCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFPSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGKSGSGSGSGSGSGSGS
		Линкер	(GS)9	GSQSVLTQPPASGTPGQRVTI SCSGSSNIGNNYVTWYQLPG	GSQSVLTQPPASGTPGQRVTI SCSGSSNIGNNYVTWYQLPG
		scFv анти тела к 4-1BB	VH 41B01 M12 VL- (GGGG)	QSVLTQPPASGTPGQRVTISC SGSSNIGNNYVTWYQLPGTA PKLLIYADSHRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEADYY CATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL	TAPKLLIYADSHRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAISGLRSEADYY YCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC

			S)4- 41B01 M12	GGGGSGGGSGGGSGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLE WVSWISYSGGSIIYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDQRNSMREFDYWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO: 124)	AASGFTFSSYDMSWVRQAPGKC LEWVSWISYSGGSIIYADSVKVG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDQRNSMREFDY WGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 129)
	Лег кий компо нент	Лег кая цепь анти тела к BCMA	BCMA- лег кая цепь	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CKASQDIDDAINWYQKPGQAP RLLIYDASLRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQSLRTPITFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 109)	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CKASQDIDDAINWYQKPGQAP RLLIYDASLRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYC QQSLRTPITFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 109)
5A6M6 (NA) x41B01 M12	Тяже лый компо нент	Тяже лая цепь анти тела к BCMA	BCMA- тяже лая цепь (NA)	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSNYGVHWRQAPGKG LEWVSYISYSGGTYYNPSLKS RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARSDDFGFDYWGGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCIVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC DKHTHTCPPAPPELLGGPSVFL FPPKPKDITLMI SRTEPEVTCVVV	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSNYGVHWRQAPGKG LEWVSYISYSGGTYYNPSLKS RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARSDDFGFDYWGGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCIVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC DKHTHTCPPAPPELLGGPSVFL FPPKPKDITLMI SRTEPEVTCVVV

			DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNYHTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 111)	DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNYHTQKS LSLSPGKSGSGSGSGSGSGSG SGSQSVLTQPPSASGTPGQRVT
	Линкер	(GS)9	GS GSGSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 99)	ISCSGSSSNI GNNYVTWYQQLP GTAPKLLIYADSHRPSGVPDRF
	scFv анти тела к 4-1BB	VH 41B01 M12 VL- (GGGG S)4- 41B01 M12	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC SGSSSNI GNNYVTWYQQLPGTA PKLLIYADSHRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEADYY CATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL GGGGSGGGSGGGSGGGGSEV QLES GGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLE WYSWISYSGSIIYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDQRNSMREFDYWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO: 124)	SGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYCATWDYSLSGYVFGCGTKL TVLGGGGSGGGSGGGSGGGG SEVQLLES GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYDMSWVRQAPGK CLEWVSWISYSGSIIYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDQRNSMREFD YWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 130)
Лег кий компо нент	Лег кая цепь анти тела к BCMA	BCMA- лег кая цепь	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC QGESLRSYVYVWYQQLPGTAPK LLIYDHSKRPTGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCQ SYDASTVVFGGGKTLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHE GSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 118)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC QGESLRSYVYVWYQQLPGTAPK LLIYDHSKRPTGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCQ SYDASTVVFGGGKTLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHE GSTVEKTVAPAEC (SEQ ID NO: 118)

В антителах, представленных ниже, можно применять одну или несколько точечных мутаций в аминокислотных последовательностях с целью повышения стабильности и эффективности, снижения иммуногенности и т.д.

3-2. Антигенсвязывающая способность антител к BCMA/4-1BB (полноразмерная форма IgG) в отношении нацеливания белка.

(1) Связывание антигена, измеренное с помощью DACE (ELISA с двойным захватом антигена).

Для оценки антигенсвязывающей активности кандидатные антитела подвергали тесту ELISA. Вкратце планшеты для микротитрования покрывали человеческим белком BCMA-Fc в концентрации 0,5 мкг/мл в PBS до 100 мкл/лунка при 4°C в течение ночи, а затем блокировали 100 мкл/лунка 1% (вес/объем) BSA. В каждую лунку добавляли трехкратные разбавления биспецифических антител, начиная с 20 мкг/мл, и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Планшеты промывали PBS/Tween, а затем инкубировали с 1% (вес/объем) BSA, содержащим человеческий белок 4-1BB his, 0,8 мкг/мл, в течение 1 ч при 37°C. Планшеты промывали с помощью PBST (0,05% (об./об.) Tween 20 в PBS). Затем планшет промывали с подложкой TMB и анализировали на спектрофотометре при OD 450-630 нм.

Как показано на фиг. 2а-2с, все биспецифические антитела могут одновременно связываться с человеческими белками BCMA и 4-1BB дозозависимым образом. Значения EC50 (нМ) суммированы в табл. 13.

Таблица 13

Антитело		EC50 (нМ)		
		41B01	41B02	AB41
BCMA	4-1BB			
	5A6 (NA)	0,359	2,22	0,763
	5D5 (NA)	0,392	1,27	0,475
	5B5 (NA)	0,683	5,57	0,636
	B58 (NA)	0,335	1,34	0,349

(2) Тест в отношении связывания с клеточной поверхностью с помощью проточной цитометрии.

Для оценки свойства связывания антигена кандидатные антитела анализировали в отношении их связывания с клетками, экспрессирующими BCMA, с помощью FACS. Вкратце клетки CHOК1, экспрессирующие BCMA человека (CHOК1-hBCMA), или клетки H929, экспрессирующие эндогенный BCMA, обрабатывали 100 нМ указанных антител при 4°C в течение 1 ч. Клетки CHOК1 применяли для BCMA-отрицательного контроля. После промывки буфером FACS (1% (мас./об.) BSA в PBS) клетки инкубировали с FITC-антителом к IgG человека при 4°C в течение 1 ч, а затем подвергали анализу FACS. Как показано на фиг. 2d-2f, антитела к BCMAx4-1BB связываются с экспрессирующими BCMA клеточными линиями CHOК1-hBCMA и H929, но не с отрицательными по BCMA клетками CHOК1. Этот результат означает, что биспецифические антитела к BCMA/4-1BB могут специфически связываться с антигеном, нацеленным на опухоль (BCMA). Результаты с фиг. 2d-2f количественно определены и обобщены в табл. 14.

Таблица 14

Антитела		Клеточная линия		
		H929	CHOК1	CHOК1-hBCMA
Только клетки		2,51	2,6	3,13
2ое контрольное Ab		3,24	2,66	3,65
5A6 (NA)	x41B01 (1A10)	43,8	3,06	652
5D5 (NA)		17,9	2,74	579
5B5 (NA)		17,6	3,37	493
B58 (NA)		45,8	3,45	662
5A6 (NA)	xAB41	39,9	3,23	636
5D5 (NA)		19,7	2,88	585
5B5 (NA)		14,1	3,38	477
B58 (NA)		49,8	3,71	652
5A6 (NA)	x41B02 (1A12)	40,3	3,07	646
5D5 (NA)		20,2	2,99	602
5B5 (NA)		14,9	3,19	484
B58 (NA)		41,6	6,01	644

3-3. Тест в отношении активации *in vitro* 4-1BB биспецифических антител к BCMA/4-1BB (репортерный биологический анализ 4-1BB).

В этом анализе в качестве эффекторных клеток применяли клеточную линию GloResponse™ NFκB-luc2/4-1BB Jurkat, генетически модифицированную для стабильной экспрессии человеческого 4-1BB и люциферазного нижеследующего элемента, а раковые клетки, экспрессирующие или не экспрессирующие BCMA, применяли в качестве целевых клеток. Вкратце планшет CHOК1-hBCMA (положительные по BCMA,  $2,5 \times 10^4$ ) или CHOК1 (отрицательные по BCMA,  $2,5 \times 10^4$ ) в белом 96-луночном планшете для анализа в 100 мкл культуральной среды каждый. Культивирование проводили в течение ночи при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO<sub>2</sub>. После культивирования в течение ночи удаляли 100 мкл культуральной среды и распределяли 25 мкл среды для анализа (RPMI1640, содержащая 1% (об./об.) FBS) на предварительно высеванные целевые клетки. В случае суспензионных клеток, планшет с H929 (положительная по BCMA,  $2,5 \times 10^5$ ) или Jurkat (отрицательная по BCMA,  $2,5 \times 10^5$ ) в белом 96-луночном планшете для анализа в 25 мкл среды для анализа. 25 мкл каждого биспецифического антитела (начиная с 50 нМ, разбавленные в 5 раз, или 200 нМ, разбавленные в 4 раза) добавляли в планшет. Клеточную линию GLORESPONSE™ NFκB-luc2/4-1BB Jurkat собирали и ресуспендировали в среде для анализа. Вносили 25 мкл клеточной линии GLORESPONSE™ NFκB-luc2/4-1BB Jurkat для получения  $2,5 \times 10^4$  клеток на лунку планшета. Культивирование проводили в течение 6 ч при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO<sub>2</sub>. Во время инкубации реагент BIO-GLO™ восстанавливали в соответствии с инструкциями производителя. Через 6 ч инкубации добавляли 75 мкл реагента BIO-GLO™ на лунку в планшет для анализа. Ожидали 5 мин и измеряли люминесценцию с помощью считывателя микропланшетов. Логистическую

кривую с четырьмя параметрами оценивали с помощью программного обеспечения GraphPad. Экспериментальные результаты с использованием клеток СНОК1-hBCMA, СНОК1, H929 и Jurkat показаны на фиг. 3a-3d соответственно.

Как показано на фиг. 3a-3d, протестированные биспецифические антитела BCMAx4-1BB продемонстрировали более сильную активацию сигнала 4-1BB в присутствии опухолевого антигена (BCMA) по сравнению с моноклональными антителами к 4-1BB в отдельности или нанесенными перекрестно связанными 4-1BB. А также BMUR, который представляет собой агонистическое моноклональное антитело к 4-1BB (эталонное антитело), характеризовался эффектом активации *in vitro* 4-1BB в отсутствие BCMA (фиг. 3b и 3d).

Это означает, что антитела к BCMA/4-1BB могут действовать специфически только в присутствии экспрессирующих BCMA раковых клеток, но не агонистических антител к 4-1BB. Результаты с фиг. 3a-3d количественно определены и обобщены в табл. 15 и 16 (табл. 15: СНОК1-hBCMA (EC50, нМ), табл. 16: H929 (EC50, нМ)).

Таблица 15

	xAB41	x41B01	x41B02	BMUR
5A6 (NA)	0,0397	0,0616	0,0413	0,1025
5D5 (NA)	0,0426	0,0691	0,0314	
5B5 (NA)	0,0741	0,0316	0,003	

Таблица 16

	x41B01	x41B02	BMUR
5A6(NA)	3.164	14.34	0.069
5D5(NA)	5.354	10.92	
5B5(NA)	5.756	12.11	

3-4. Тест в отношении активации *in vitro* 4-1BB биспецифических антител к BCMA/4-1BB (тест с применением PBMC человека).

PBMC человека культивировали совместно с клеточной линией СНОК1 (не экспрессирующей человеческий BCMA) или генетически модифицированной СНОК1-hBCMA (стабильно экспрессирующей человеческий BCMA) в присутствии антитела к человеческому CD3 и антител для тестирования. Вкратце PBMC высевали по  $3 \times 10^4$  клеток на лунку, а либо СНОК1, либо СНОК1-hBCMA высевали совместно по  $1 \times 10^4$  клеток на лунку. В лунки планшета добавляли биспецифические антитела (начиная с 20 нМ, разведенные в 4 раза) и моноклональные антитела (начиная с 26,67 нМ, разведенные в 4 раза). После культивирования концентрацию секретируемого IFN-гамма в супернатанте измеряли с помощью набора Human IFN-gamma Quantikine (система R&D, SIF50).

Как показано на фиг. 4a-4c антитела к BCMA/4-1BB индуцировали большее высвобождение цитокинов, чем моноклональные антитела или BMUR (агонистическое моноклональное антитело к 4-1BB).

3-5. Сравнение активности связывания целевого белка (дикий тип по сравнению с мутантными).

Чтобы стабилизировать биспецифические антитела к BCMA/4-1BB, в CDR тяжелой цепи или легкой цепи антитела вносили одну или несколько точечных мутаций в аминокислотные последовательности, как показано в табл. 4. Для оценки антигенсвязывающей активности кандидатные антитела (клоны дикого типа и мутантные клоны) подвергали тесту DACE (ELISA с двойным захватом антигена), как выполнено в примере 3-2(1). Полученные результаты показаны на фиг. 5a и 5b.

Как показано на фиг. 5a и 5b, все биспецифические антитела могут одновременно связываться с человеческими белками BCMA и 4-1BB дозозависимым образом. Было обнаружено, что несколько мутантов улучшают связывание с целевым белком. Среди мутантов 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 проявляли превосходную антигенсвязывающую активность по сравнению с клоном дикого типа (фиг. 5c). Для оценки свойства связывания нативного антигена 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 анализировали в отношении их связывания с BCMA, экспрессируемым у млекопитающих, с помощью FACS, как выполнено в примере 2-2(2). Как показано на фиг. 5d, 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 проявляли повышенную активность связывания нативного антигена по сравнению с диким типом. Результаты теста на связывание с белками и теста на связывание с клетками количественно определены и обобщены в табл. 17 и 18 (табл. 17: связывание с белками (EC50, нМ)).

Таблица 17

	Антитело	EC50 (нМ)
Фиг. 5a (слева)	5D5(NA)x41B01 M12 : WT	0,496
	5D5M1(NA)x41B01 M12	0,542
	5D5M2(NA)x41B01 M12	0,580
	5D5M3(NA)x41B01 M12	0,468
Фиг. 5a (справа)	5D5(NA)x41B01 M12 : WT	0,547
	5D5M4(NA)x41B01 M12	0,418
	5D5M5(NA)x41B01 M12	0,507
Фиг. 5b (слева)	5A6(NA)x41B01 M12 : WT	0,545
	5A6M1(NA)x41B01 M12	0,355
	5A6M2(NA)x41B01 M12	0,698
	5A6M3(NA)x41B01 M12	0,356
Фиг. 5b (средняя часть)	5A6(NA)x41B01 M12 : WT	0,397
	5A6M4(NA)x41B01 M12	0,356
	5A6M5(NA)x41B01 M12	0,249
	5A6M6(NA)x41B01 M12	0,291
Фиг. 5b (справа)	5A6(NA)x41B01 M12 : WT	0,334
	5A6M7(NA)x41B01 M12	0,325
	5A6M8(NA)x41B01 M12	0,304

Таблица 18

Антитело	MFI	MFI мутантной формы/MFI для WTx100
5D5M4(NA)x41B01 M12	64,8	172,8%
5A6M6(NA)x41B01 M12	102	101,0%

3-6. Аффинность связывания мутантных биспецифических антител с целевыми белками ВСМА и 4-1ВВ (SPR).

В эксперименте SPR биспецифические антитела к ВСМА/4-1ВВ, полученные в примерах 3-5, были отдельно захвачены проточными кюветами 2, 3 и 4, сохраняя проточную кювету 1 в качестве эталона на чипе с белком А, на котором путем связывания с амином было иммобилизовано биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ (5D5M4(NA)x41B01 M12 или 5A6M6(NA)x41B01 M12). Рекombинантный человеческий белок ВСМА или человеческий белок 4-1ВВ пропускали через чип в диапазоне концентраций от 100 до 6,25 нМ для человеческого ВСМА или от 250 до 15,625 нМ для человеческого 4-1ВВ и 0,78 нМ при 30 мкл/мин в течение 300 с с последующей фазой диссоциации 400 с. Регенерацию проводили с помощью 10 мМ глицин-НСl (рН 2,0). Полученные результаты показаны в следующих табл. 19 и 20. Как показано в табл. 19 и 20, 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 проявляли высокую аффинность в отношении ВСМА и 4-1ВВ (табл. 19: результат измерения аффинности для 5D5M4(NA)x41B01 M12, табл. 20: результат измерения аффинности для 5A6M6(NA)x41B01 M12).

Таблица 19

Мишень	Ka (x10 <sup>5</sup> , 1/мс)	Kd (x10 <sup>-2</sup> , 1/с)	KD (x10 <sup>-8</sup> , М)	Rmax (RU, мишень = 12,5 RU)
hBCMA	40,69	6,503	1,602	13,18
h4-1BB	2,361	9,461	4,009	53,78

Таблица 20

Мишень	Ka (x10 <sup>5</sup> , 1/мс)	Kd (x10 <sup>-2</sup> , 1/с)	KD (x10 <sup>-8</sup> , М)	Rmax (RU, мишень = 12,5 RU)
hBCMA	5,272	1,186	2,257	13,42
h4-1BB	2,379	9,732	4,102	52,61

3-7. Тест в отношении активации *in vitro* 4-1ВВ для мутантных биспецифических антител.

Кандидатные антитела анализировали в отношении их активности 4-1ВВ *in vitro* с использованием системы набора Promega, как в примере 2-3.

Как показано на фиг. 6а-6с, мутантный формат биспецифических антител к ВСМА/4-1ВВ показал улучшенную эффективность по сравнению с форматом дикого типа в положительных по ВСМА раковых клетках, в то время как все клоны не активировали передачу сигнала с участием 4-1ВВ в отрицательные

по ВСМА раковых клетках (Jurkat) (табл. 21: результат активации 4-1BB *in vitro* (EC<sub>50</sub>, нМ)). Таким образом, 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 показали улучшенную опосредованную мишенью активацию 4-1BB.

Таблица 21

Название антитела	H929	MM1S
5D5WT(NA)x41B01 M12	0,629	2,66
5D5M4(NA)x41B01 M12	0,377	2,41
5A6WT(NA)x41B01 M12	0,459	2,26
5A6M6(NA)x41B01 M12	0,165	1,98

3-8. Тест перекрестной реактивности в отношении мутантных биспецифических антител у обезьян.

Для оценки перекрестной реактивности кандидатные антитела (5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12) подвергали тесту ELISA. Вкратце планшеты для микротитрования покрывали белком Rhesus BCMA-Fc (50 нг/лунка) при 4°C в течение ночи, затем блокировали 200 мкл/лунка PBSB (1% (мас./об.) BSA в PBS). В каждую лунку добавляли трехкратные разведения 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12, начиная со 100 нМ, и инкубировали при 37°C в течение 1 ч. Планшеты промывали PBST (0,05% (об./об.) Tween20 в PBS) и затем инкубировали в течение 1 ч при 37°C с белком Rhesus 4-1BB-His (80 нг/лунку). Планшеты промывали PBST (0,05% (об./об.) Tween20 в PBS) и затем инкубировали с HRP (пероксидазой хрена), конъюгированными антителами к his, в течение 1 ч при 37°C. После промывки планшеты проявляли субстратом TMB и анализировали на спектрофотометре при 450-630 нм. Как показано на фиг. 7, 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 связываются с BCMA и 4-1BB Rhesus одновременно дозозависимым образом (табл. 22: связывание с белками (EC<sub>50</sub>, нМ)).

Таблица 22

Антитело	EC <sub>50</sub> (нМ)
5D5M4(NA)x41B01 M12	0,926
5A6M6(NA)x41B01 M12	1,66

3-9. Ингибирование роста опухоли мутантными биспецифическими антителами у гуманизированных мышей NOG, несущих H929.

Противоопухолевый эффект антитела к BCMA/4-1BB тестировали на гуманизированных мышах NOG, которым вводили клетки H929. Вкратце клетки H929 вводили путем подкожной инъекции клеток NCI-H929 ( $5 \times 10^6$ ) в правый бок 74 необлученных самок животных. На день 11 очищенные Т-клетки ( $10 \times 10^6$ ) от трех доноров вводили внутривенно мышам. Когда опухоли достигали среднего объема 154 мм<sup>3</sup> (на день 12), животных рандомизировали на четыре группы по 14 мышей в каждой. Мышам внутривенно вводили Q3D пять раз (пятикратная инъекция антитела каждые три дня) следующие антитела: контрольный тип IgG человека (7,5 мг/кг без инъекций Т-клеток: изотипический контроль\_7,5 мг/кг\_без Т-клеток), контрольный тип IgG человека (7,5 мг/кг: изотипический контроль\_7,5 мг/кг), биспецифическое антитело к BCMA/к 4-1BB (5D5M4(NA)x41B01 M12, 10 мг/кг) и биспецифическое антитело к BCMA/4-1BB (5A6M6(NA)x41B01 M12, 10 мг/кг). Объемы опухоли контролировали с помощью штангенциркуля дважды в неделю в течение всего эксперимента, и полученные результаты показаны на фиг. 8a-8c. Как показано на фиг. 8a и 8b, 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 показали значительный противоопухолевый эффект. Степень ингибирования роста опухоли (TGI %) составила 44,8% для 5D5M4(NA)x41B01 M12, 49,4% для 5A6M6(NA)x41B01 M12. Таким образом, эффективность двух биспецифических антител была одинаковой.

3-10. Анализ опухолеинфильтрирующих лимфоцитов (TIL).

Для оценки TIL, фиксированные формалином, залитые парафином срезы опухолевой ткани от мышей H929, несущих трансплантат hPVMC, подвергали иммуноокрашиванию антителом к CD45 (маркер лейкоцитов человека) и антителом к CD8 (маркер цитотоксических Т-лимфоцитов человека). Иммуногистохимическую методику выполняли с применением набора для обнаружения авидин-биотиана. Полученный результат показан на фиг. 9a и 9b. Как показано на фиг. 9a и 9b, биспецифические антитела к BCMA/4-1BB эффективно усиливали инфильтрацию иммунных клеток, включая клетки CD45+ и Т-клетки CD8+, в опухолевые ткани по сравнению с перитопухолевыми. Из этих результатов видно, что количество клеток CD45+ и CD8+ увеличивается в группе обработки биспецифическим антителом к BCMA/4-1BB, в частности в компартменте опухоли.

3-11. Фармакокинетика биспецифических антител к BCMA/4-1BB у яванского макака.

10 мг/кг биспецифических антител к BCMA/4-1BB (5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12) инъецировали через подкожную вену яванским макакам. Образцы крови брали у каждого животного через бедренную вену перед введением дозы и через запланированные интервалы от 0,05 до 504 ч после введения дозы. Образцы крови центрифугировали для получения сыворотки крови. Концентрации 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 в сыворотке крови яванского макака измеряли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). 96-луночные планшеты покрывали белком

BCMA-Fc человека, затем блокировали блокирующим буфером. После этого планшеты промывали и добавляли в них стандарты, образцы для контроля качества и образцы для исследования, а затем инкубировали в течение 2 ч при 37°C. Затем планшеты снова промывали и инкубировали с белком 4-1BB-his человека. После промывки связанные молекулы обнаруживали с помощью конъюгированного с пероксидазой хрена меченого антитела к His. Планшеты проявляли субстратом ТМВ и анализировали на спектрофотометре при оптической плотности 450-650 нм. Концентрации в образцах сыворотки определяли по стандартной кривой, построенной с использованием известных количеств 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 в соответствующей сыворотке яванского макака с использованием 4-параметрического алгоритма. Диапазон стандартной кривой для 5D5M4(NA)x41B01 M12 и 5A6M6(NA)x41B01 M12 составлял от 46 до 300000 нг/мл, а нижний предел количественного определения (LLOQ) был определен как 300 нг/мл. Фармакокинетические параметры оценивали по некомпартментной модели с использованием программного обеспечения WinNonlin (Phoenix WinNonlin 8.0). Полученный результат показан на фиг. 10a и 10b. Результаты на фиг. 10a и 10b количественно определены и обобщены в табл. 23 и 24 соответственно (настройка WinNonlin, NCA, линейная трапециевидная линейная интерполяция, IV болюсная доза, время расчета периода полувыведения: от 24 до 240 ч). Из результатов видно, что 5D5M4(NA)x41B01 M12 имеет даже более высокие фармакокинетические свойства, чем 5A6M6(NA)x41B01 M12.

Таблица 23

Субъект	Кол-во образцов	Период полужизни (ч)	Период полужизни (дни)	T <sub>max</sub> (ч)	C <sub>max</sub> (мкг/мл)	CO (мкг/мл)	AUC <sub>last</sub> (ч*мкг/мл)	AUC <sub>INF_obs</sub> (ч*мкг/мл)	Cl <sub>obs</sub> (мл/ч/кг)	V <sub>ss_obs</sub> (мл/кг)
№ 1	9	161,6	6,7	0,1	357,6	365,6	23750,4	35845,5	0,28	62,24
№ 2	9	150,8	6,3	0,1	270,1	273,4	22235,0	33335,5	0,30	64,33
№ 3	9	102,7	4,3	0,1	318,3	323,3	22978,7	27517,8	0,36	50,03
Среднее значение		138,4	5,8	0,1	315,3	320,8	22988,0	32232,9	0,31	58,87
SD		31,4	1,3	0,0	43,8	46,1	757,7	4271,9	0,04	7,73

Таблица 24

Субъект	Кол-во образцов	Период полужизни (ч)	Период полужизни (дни)	T <sub>max</sub> (ч)	C <sub>max</sub> (мкг/мл)	CO (мкг/мл)	AUC <sub>last</sub> (ч*мкг/мл)	AUC <sub>INF_obs</sub> (ч*мкг/мл)	Cl <sub>obs</sub> (мл/ч/кг)	V <sub>ss_obs</sub> (мл/кг)
№ 4	9	82,3	3,4	0,1	254,0	255,6	18066,2	20446,6	0,49	54,39
№ 5	9	86,8	3,6	0,1	224,9	227,3	15369,3	17515,9	0,57	66,52
№ 6	9	46,4	1,9	0,1	234,6	237,6	15671,0	15877,5	0,63	49,92
Среднее значение		71,8	3,0	0,1	237,8	240,1	16368,8	17946,7	0,56	56,94
SD		22,1	0,9	0,0	14,8	14,3	1477,7	2314,8	0,07	8,59

3-12. Ингибирование роста опухоли биспецифическим антителом к BCMA/4-1BB у мышей с нокаутом 4-1BB, несущих сверхэкспрессированный BCMA MC38.

In vivo противоопухолевую эффективность биспецифического антитела к BCMA/4-1BB оценивали с помощью системы с использованием мышей со сверхэкспрессией BCMA MC38, несущих нокаут 4-1BB человека (CRO: Biocytogen). Вкратце клетки MC38-hBCMA ( $5 \times 10^6$ ) инокулировали путем подкожной инъекции в правый бок необлученных самок животных. На день 7, когда средний объем опухоли достигал 110 мкл, мышей рандомизировали на три группы (n=8/группа). Затем 7,5 мг/кг изотипического контрольного антитела (hIgG1) и 2 или 0,4 мг/кг биспецифического антитела к BCMA/4-1BB (5D5M4(NA)x41B01 M12) соответственно внутривенно вводили восемь раз с графиком дозирования Q3D (один раз в три дня). Чтобы получить результаты роста опухоли, объемы опухоли контролировали с помощью штангенциркуля дважды в неделю.

Полученные результаты показаны на фиг. 11 и в табл. 25. В табл. 25 представлены сводные результаты ингибирования роста опухоли для 5D5M4(NA)x41B01 M12 у мышей, несущих MC38-hBCMA с нокаутом 4-1BB (\* P<0,05; \*\* P<0,01). В табл. 25 Q3D относится к частоте дозирования один раз в три дня.

Таблица 25

Группа	Дозы	Частота и время введения доз	Объем опухоли (мм <sup>3</sup> ) а		TGI (%)	Pb
			До обработки	24 день после обработки		
hIgG1	7,5 мг/кг	Q3D,8	106+3	2288+964	-	-
5D5M4(NA)x4	0,4 мг/кг	Q3D,8	106+3	1253+737	47,4	*0,012
1B01 M12	2 мг/кг	Q3D,8	106+2	834+378	62,2	**0,0001

Как показано на фиг. 11 и в табл. 25, 5D5M4(NA)x41B01 M12 показал противоопухолевую эффективность. Скорость ингибирования роста опухоли (TGI%) составила около 62,2% для G2 (5D5M4(NA)x41B01 M12, 2 мг/кг) и около 47,4% для G3 (5D5M4(NA)x41B01 M12, 0,4 мг/кг). В целом биспецифические антитела к ВСМА/4-1ВВ продемонстрировали превосходную противоопухолевую эффективность в отношении опухоли человека ВСМА/МС38.

#### Перечень последовательностей

<110> ABL BIO INC.

<120> БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К ВСМА/4-1ВВ И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

<130> GN-63722-РСТ

<160> 130

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 184

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческий ВСМА (NP\_001183.2)

<400> 1

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile  
65 70 75 80

Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu  
85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu  
100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys  
115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe  
130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys  
145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu  
165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg  
180

<210> 2

<211> 121

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к ВСМА В58

<400> 2

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

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

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

Ser Trp Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Pro Phe Ala Asn Lys Tyr Arg Gln Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 3

<211> 116

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к ВСМА 5B5

<400> 3

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

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

046716

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

Ser Thr Val Ser Gly Ser Gly Gly Asp Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly His Ser Val Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 4

<211> 116

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к ВСМА 5D5

<400> 4

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu His Gly Leu Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 5

<211> 117

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к ВСМА 5A6

&lt;400&gt; 5

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45Ser Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95Arg Asp Ser Asp Asp Phe Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи антитела к ВСМА В58

&lt;400&gt; 6

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn  
20 25 30Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45Ile Tyr Ala Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Tyr Ser Leu  
85 90 95Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи антитела к ВСМА 5B5

&lt;400&gt; 7

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Tyr  
20 25 30Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Leu Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Trp Pro Ile  
85 90 95Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи антитела к ВСМА 5D5

&lt;400&gt; 8

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp  
20 25 30Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Leu Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 9  
 <211> 107  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Вариабельная область легкой цепи антитела к ВСМА 5А6

<400> 9  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
 20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val Val  
 85 90 95

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

<210> 10  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR1 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 10  
 Asn Tyr Asp Met Ser  
 1 5

<210> 11  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR1 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 11  
 Gly His Tyr Trp Ser  
 1 5

<210> 12

<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 12  
Asp Tyr Gly Leu Ser  
1 5

<210> 13  
<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 13  
Asn Tyr Gly Val His  
1 5

<210> 14  
<211> 17  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR2 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 14  
Trp Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

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

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 15  
Thr Val Ser Gly Ser Gly Gly Asp Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 16

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

<220>  
<223> CDR4 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 16  
Leu Ile Asp Ser Ser Gly Ser Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 17  
<211> 16  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR5 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 17  
Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
1 5 10 15

<210> 18  
<211> 13  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 18  
Arg Gly Pro Phe Ala Asn Lys Tyr Arg Gln Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 19  
<211> 8  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 19  
Arg Gly His Ser Val Met Asp Val  
1 5

<210> 20  
<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR3 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 20

Lys Glu His Gly Leu Phe Asp Ser

1 5

<210> 21

<211> 10

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR3 тяжелой цепи антитела к ВСМА

<400> 21

Arg Asp Ser Asp Asp Phe Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 22

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Ser

1 5 10

<210> 23

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 24

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 24  
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp Ile Asn  
1 5 10

<210> 25  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 25  
Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 26  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR2 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 26  
Ala Asp Ser Lys Arg Pro Ser  
1 5

<210> 27  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR2 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 27  
Asp Ala Ser Leu Arg Ala Thr  
1 5

<210> 28  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR2 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 28  
Asp His Ser Lys Arg Pro Thr  
1 5

<210> 29  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 29  
Gly Ser Trp Asp Tyr Ser Leu Ser Gly Tyr Val  
1 5 10

<210> 30  
<211> 8  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 30  
Gln Gln Tyr Asn Ser Trp Pro Ile  
1 5

<210> 31  
<211> 8  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 31  
Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
1 5

<210> 32  
<211> 8  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 легкой цепи антитела к ВСМА

<400> 32  
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val  
1 5

<210> 33  
<211> 363  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область тяжелой цепи антитела к ВСМА В58

<400> 33

gaggtgcagc tgctggagtc cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggctc cctgcggctg 60

tctgcgccc cctccggctt caccttctcc aactacgaca tgtctgggt gcggcaggcc 120

cccggcaagg gctggagtg ggtgtcctgg atctaccct cggactctc catctactac 180

gccgactccg tgaaggccg gttcacatc tcccgggaca actccaaga caccctgtac 240

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggggcccc 300

ttcgccaaca agtaccggca gttcactac tggggccagg gcaccctgtt gaccgtgtcc 360

tcc 363

<210> 34

<211> 348

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область тяжелой цепи антитела к ВСМА 5B5

<400> 34

gaggtccagt tgttgaaag cgggtggtgt ttggtcaac caggcggtag cctcagactc 60

tctgcgctg cctccgggtt tactttctca gggcactatt ggtctgggt cegtcaggca 120

cctggtaaagg gacttgaatg ggtatctaca gttccggct ccggtggaga cactttttat 180

gcagacagcg ttaagggcg cttfactata agtctgata attcaaaaa tactctctat 240

ctccaaatga actccctccg tgctgaagat accgctgtgt actactgcgc tcgaggtcac 300

tcagtcatgg acgtatgggg gcagggcaca ctggtgaccg tatcttcc 348

<210> 35

<211> 348

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область тяжелой цепи антитела к ВСМА 5D5

<400> 35

gaggtccagt tgttgaaag cgggtggtgt ttggtcaac caggcggtag cctcagactc 60

tctgcgctg cctccgggtt tactttcagc gattatggac tgctatgggt gcgtcaagct 120

cctggaaaag ggttgagtg ggtgaccct atagacagca gtgggagtag cactttctac 180

gctgatagcg tgaaggtag attfactatc tctctgata actccaaga tacattgtat 240

cttcaaatga acagtctgag agctgaggac actgccgttt attattgtgc aaaggaacat 300

ggtcttttcg actcatgggg acaggaaca ctggtgaccg tatctcc 348

<210> 36

<211> 351

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область тяжелой цепи антитела к ВСМА 5А6

<400> 36

gaggccagt tgttgaaag cgggtgggt ttggtcaac caggcggtag cctcagactc 60

tctgcgctg cctccgggtt tactttcagt aactatggag tacattgggt cagacaagcc 120

cccggcaaaag gtcttgagtg ggtagctac atttctata gcggaggaac ttactataac 180

ccctactta aaagccgctt cactatatca cgcgataata gcaagaacac cctctatctt 240

caaatgaact ctctgcgagc agaagacacc gccgtgtact attgcgctag agatagcgac 300

gactcgggt tcgattattg gggacagggc aactggtga ccgatcttc c 351

<210> 37

<211> 333

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область легкой цепи антитела к ВСМА В58

<400> 37

cagtccgtgc tgaccagcc ccctccgc tccggcacc cggccagcg ggtgaccatc 60

tctgtctcg gtcctctc сааатсггс тссаагсгс гтсгггга ссгсгсгс 120

cccggcacc ccccaagct gctgatctac gccgactcca agcggcctc cggcgtgcc 180

gaccggtct cggctcca gtccggcacc tccgctccc tggcatctc cggcctcgg 240

tccgagcag agccgacta ctactcggc tctgggact actcctgtc cggctactg 300

ttcggcggcg gcaccaagct gaccgtgctg ggc 333

<210> 38

<211> 324

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область легкой цепи антитела к ВСМА 5В5

<400> 38

gaaatagtag ttacacagtc ccctggaact ctgtcacttt ccctgggga gcgagctaca 60

ctgagctgct gtccagcca gggcattgat agttactggt catggtatca gcagaagccc 120

ggccaggctc caaggctgtt gatttacgat gcatcattgc gagccaccgg aatacctgac 180  
 cgtttctccg gcagtggctc cgggacagac ttaccctta ctatctcacg tctcgagcca 240  
 gaagactttg cagtgtatta ttgccaacaa tacaacagtt ggcctataac cttcggccag 300  
 gggacaaaac tggagataaa gcgt 324

<210> 39

<211> 324

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область легкой цепи антитела к ВСМА 5D5

<400> 39

gaaatagtagc ttacacagtc ccctggaact ctgtcacttt cccctgggga gcgagctaca 60  
 ctgagctgta aagcctcaca ggacatagac gatgacatca actggtatca gcaaaaacct 120  
 ggacaagctc cagctctct gatttacgat gcatcactta gggccacagg aattcctgat 180  
 aggttctctg gtagcggcag tggaaaccgat ttaccctca caatatctcg acttgaacca 240  
 gaagatttcg ccgttatta ctgctagcag tccttagga cccccattac attcgccag 300  
 gggacaaaac tggagataaa gcgt 324

<210> 40

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Полинуклеотид, кодирующий варибельную область легкой цепи антитела к ВСМА 5A6

<400> 40

caatctgtcc ttacacagcc tccaagcgca agcggcaccc ccggacaaag ggtaacaata 60  
 tcatgccagg gggattctct tcgcagctat tacgtgaatt ggtatcagca gttgcccggc 120  
 actgccccca aacttttgat atacgatcac tccaagcgcc ccacaggagt gcctgatagg 180  
 ttcagcggat ctaagtctgg aacatccgct tctttggcaa tctctgggct gcgaagtgag 240  
 gacgaggcag actactactg ccagtcttat gacagctcta ctgtagtctt cggaggcggt 300  
 acaaaactga cagtgtctcg t 321

<210> 41

<211> 108

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область легкой цепи 5D5 M1

<400> 41

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Asp  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 42

<211> 108

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область легкой цепи 5D5 M2

<400> 42

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Glu Asp  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 43

<211> 108

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи 5D5 M3

&lt;400&gt; 43

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ala Asp  
20 25 30Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Leu Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи 5D5 M4

&lt;400&gt; 44

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Ala  
20 25 30Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Leu Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи 5D5 M5

&lt;400&gt; 45

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Glu  
20 25 30Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45Tyr Asp Ala Ser Leu Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи 5A6 M1

&lt;400&gt; 46

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val Val  
85 90 95Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105

<210> 47  
 <211> 107  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Вариабельная область легкой цепи 5A6 M2

<400> 47  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
 20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val Val  
 85 90 95

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

<210> 48  
 <211> 107  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Вариабельная область легкой цепи 5A6 M3

<400> 48  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
 20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val Val  
 85 90 95

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

<210> 49  
 <211> 107  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Варибельная область легкой цепи 5A6 M4

<400> 49  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
 20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val Val  
 85 90 95

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

<210> 50  
 <211> 107  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Варибельная область легкой цепи 5A6 M5

<400> 50  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
 20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val Val  
 85 90 95

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

<210> 51  
<211> 107  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Вариабельная область легкой цепи 5A6 M6

<400> 51  
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val Val  
85 90 95

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

<210> 52  
<211> 107  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Вариабельная область легкой цепи 5A6 M7

<400> 52  
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val Val

85 90 95

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

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область легкой цепи 5A6 M8

&lt;400&gt; 53

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val Val  
85 90 95

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

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CDR1 легкой цепи 5D5 M1

&lt;400&gt; 54

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Asp Ile Asn  
1 5 10

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CDR1 легкой цепи 5D5 M2

&lt;400&gt; 55

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Glu Asp Ile Asn  
1 5 10

<210> 56  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 легкой цепи 5D5 M3

<400> 56  
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ala Asp Ile Asn  
1 5 10

<210> 57  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 легкой цепи 5D5 M4

<400> 57  
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Ala Ile Asn  
1 5 10

<210> 58  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 легкой цепи 5D5 M5

<400> 58  
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Glu Ile Asn  
1 5 10

<210> 59  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 легкой цепи 5A6 M1

<400> 59  
Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 60  
<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи 5A6 M2

<400> 60

Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи 5A6 M5 и 5A6 M6

<400> 61

Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи 5D5 M7 и 5D5 M8

<400> 62

Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 63

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR3 легкой цепи 5A6 M3, 5A6 M5 и 5A6 M7

<400> 63

Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val  
1 5

<210> 64

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR3 легкой цепи 5A6 M4, 5A6 M6 и 5A6 M8

<400> 64  
Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val  
1 5

<210> 65  
<211> 121  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B01

<400> 65  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 66  
<211> 121  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M4

<400> 66  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 67

<211> 121

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Варибельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M11

<400> 67

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ala Gln Arg Gln Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 68

<211> 121

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Варибельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M12

<400> 68

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 69

<211> 121

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M13

<400> 69

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ala Gln Arg Gln Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 70

<211> 127

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B02

&lt;400&gt; 70

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
20 25 30Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45Ser Val Ile Tyr Pro Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95Ala Lys His Gly Gly Gln Lys Pro Thr Thr Lys Ser Ser Ser Ala Tyr  
100 105 110Gly Met Asp Gly Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 127

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Вариабельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB 41B02 M1

&lt;400&gt; 71

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
20 25 30Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45Ser Val Ile Tyr Pro Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95Ala Lys His Gly Gly Gln Lys Pro Thr Thr Lys Ser Ser Ser Ala Tyr  
100 105 110

Gly Met Asp Gly Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 72

<211> 119

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область тяжелой цепи антитела к 4-1BB АВ41

<400> 72

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Ile Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Phe Thr Thr Ala Arg Ala Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 73

<211> 111

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B01

<400> 73

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 74

<211> 111

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Варибельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M4

<400> 74

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 75

<211> 111

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Варибельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M11

<400> 75

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 76

<211> 111

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Варибельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M12

<400> 76

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 77

<211> 111

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Варибельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B01 M13

<400> 77

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 78

<211> 111

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B02

<400> 78

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 79

<211> 111

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область легкой цепи антитела к 4-1BB 41B02 M1

<400> 79

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
100 105 110

<210> 80

<211> 108

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариабельная область легкой цепи антитела к 4-1BB AB41

<400> 80

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asp Tyr  
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala  
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asp Gly His Ser Phe Pro Pro  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105

<210> 81  
<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 тяжелой цепи 41B01, 41B01 M4, 41B01 M11, 41B01 M12 и 41B01 M13

<400> 81  
Ser Tyr Asp Met Ser  
1 5

<210> 82  
<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 тяжелой цепи 41B02 и 41B02 M1

<400> 82  
Gly Tyr Asp Met Ser  
1 5

<210> 83  
<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 тяжелой цепи AB41

<400> 83  
Ser Tyr Trp Met His  
1 5

<210> 84  
<211> 17  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR2 тяжелой цепи 41B01, 41B01 M4, 41B01 M11, 41B01 M12 и 41B01 M13

<400> 84  
Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 85

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

<220>  
<223> CDR2 тяжелой цепи 41B02 и 41B02 M1

<400> 85  
Val Ile Tyr Pro Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 86  
<211> 17  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR2 тяжелой цепи AB41

<400> 86  
Glu Ile Asn Pro Gly Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Ser

<210> 87  
<211> 12  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи 41B01

<400> 87  
Asp Gly Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 88  
<211> 12  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи 41B01 M4 и 41B01 M12

<400> 88  
Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 89

<211> 12  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи 41B01 M11 и 41B01 M13

<400> 89  
Asp Ala Gln Arg Gln Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 90  
<211> 18  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи 41B02 и 41B02 M1

<400> 90  
His Gly Gly Gln Lys Pro Thr Thr Lys Ser Ser Ser Ala Tyr Gly Met  
1 5 10 15

Asp Gly

<210> 91  
<211> 10  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи AB41

<400> 91  
Ser Phe Thr Thr Ala Arg Ala Phe Ala Tyr  
1 5 10

<210> 92  
<211> 13  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> CDR1 легкой цепи 41B01, 41B01 M4, 41B01 M11, 41B01 M12, 41B01 M13, 41B02 и 41B02 M1

<400> 92  
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Thr  
1 5 10

<210> 93  
<211> 11  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR1 легкой цепи AB41

<400> 93

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asp Tyr Leu His  
1 5 10

<210> 94

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR2 легкой цепи 41B01, 41B01 M4, 41B01 M11, 41B01 M12, 41B01 M13, 41B02 и 41B02 M1

<400> 94

Ala Asp Ser His Arg Pro Ser  
1 5

<210> 95

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR2 легкой цепи AB41

<400> 95

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser  
1 5

<210> 96

<211> 11

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR3 легкой цепи 41B01, 41B01 M4, 41B01 M11, 41B01 M12, 41B01 M13, 41B02 и 41B02 M1

<400> 96

Ala Thr Trp Asp Tyr Ser Leu Ser Gly Tyr Val  
1 5 10

<210> 97

<211> 9

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> CDR3 легкой цепи AB41

<400> 97

Gln Asp Gly His Ser Phe Pro Pro Thr  
1 5

<210> 98  
<211> 20  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Линкер (GGGS)4

<400> 98  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
20

<210> 99  
<211> 18  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Линкер (GS)9

<400> 99  
Gly Ser  
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 100  
<211> 451  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> ВСМА-тяжелая цепь антитела B58

<400> 100  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

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

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

Ser Trp Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Pro Phe Ala Asn Lys Tyr Arg Gln Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr  
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
435 440 445

Pro Gly Lys  
450

&lt;210&gt; 101

&lt;211&gt; 216

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ВСМА-легкая цепь антитела B58

&lt;400&gt; 101

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn  
20 25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Tyr Ser Leu  
85 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
195 200 205

Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser

210 215

&lt;210&gt; 102

&lt;211&gt; 446

&lt;212&gt; БЕЛЮК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ВСМА-тяжелая цепь антитела 5B5

&lt;400&gt; 102

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly His  
20 25 30Tyr Trp Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45Ser Thr Val Ser Gly Ser Gly Gly Asp Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95Ala Arg Gly His Ser Val Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
210 215 220Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 103

<211> 214

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5B5

<400> 103

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Tyr  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 104

<211> 446

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-тяжелая цепь 5D5, 5D5 M1, 5D5 M2, 5D5 M3 и 5D5 M4

<400> 104

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu His Gly Leu Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 105  
 <211> 214  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> ВСМА-легкая цепь антитела 5D5

<400> 105  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp  
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 106  
 <211> 214  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> ВСМА-легкая цепь антитела 5D5 M1

<400> 106

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Asp  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 107

<211> 214

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> BCMA-легкая цепь антитела 5D5 M2

<400> 107

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Glu Asp  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 108

<211> 214

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5D5 M3

<400> 108

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ala Asp  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 109

<211> 214

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5D5 M4

<400> 109

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Ala  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 110

<211> 214

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5D5 M5

<400> 110

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Glu  
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Leu Arg Thr Pro Ile  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 111

<211> 447

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-тяжелая цепь 5A6, 5A6 M1, 5A6 M2, 5A6 M3, 5A6 M4, 5A6 M5, 5A6 M6, 5A6 M7 и 5A6 M8

<400> 111

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

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

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

Ser Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

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

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

Arg Asp Ser Asp Asp Phe Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 112

<211> 212

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5A6

<400> 112

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val Val  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 212

&lt;212&gt; БЕЛЮК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; BCMA-легкая цепь антитела 5A6 M1

&lt;400&gt; 113

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val Val

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

&lt;210&gt; 114

&lt;211&gt; 212

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M2

&lt;400&gt; 114

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr Val Val  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val

130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205Ala Glu Cys Ser  
210

&lt;210&gt; 115

&lt;211&gt; 212

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M3

&lt;400&gt; 115

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val Val  
85 90 95Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser

180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

&lt;210&gt; 116

&lt;211&gt; 212

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M4

&lt;400&gt; 116

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val Val  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

<210> 117  
 <211> 212  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M5

<400> 117  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
 20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val Val  
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
 115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
 130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
 145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
 165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
 180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
 195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
 210

<210> 118  
 <211> 212  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M6

<400> 118

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Glu Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val Val  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

<210> 119

<211> 212

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M7

<400> 119

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Thr Val Val  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

<210> 120

<211> 212

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ВСМА-легкая цепь антитела 5A6 M8

<400> 120

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ala Leu Arg Ser Tyr Tyr Val  
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Asp His Ser Lys Arg Pro Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu  
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Thr Val Val  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
195 200 205

Ala Glu Cys Ser  
210

<210> 121

<211> 251

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B01 scFV

<400> 121

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
245 250

<210> 122

<211> 251

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B01 M4 scFV

<400> 122

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
245 250

<210> 123

<211> 251

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B01 M11 scFV

<400> 123

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Ala Gln Arg Gln Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
245 250

<210> 124

<211> 251

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B01 M12 scFV

<400> 124

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
245 250

<210> 125

<211> 251

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B01 M13 scFV

<400> 125

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Ala Gln Arg Gln Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
245 250

<210> 126

<211> 257

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B02 scFV

<400> 126

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Gly Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Val Ile Tyr Pro Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ala Ala Val Tyr  
210 215 220

Tyr Cys Ala Lys His Gly Gly Gln Lys Pro Thr Thr Lys Ser Ser Ser  
225 230 235 240

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

Ser

<210> 127

<211> 257

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> 41B02 M1 scFV

<400> 127

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
65 70 75 80

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

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
145 150 155 160

Gly Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
165 170 175

Trp Val Ser Val Ile Tyr Pro Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp  
180 185 190

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
195 200 205

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

Tyr Cys Ala Lys His Gly Gly Gln Lys Pro Thr Thr Lys Ser Ser Ser  
225 230 235 240

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

Ser

<210> 128

<211> 247

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> AB41 scFV

<400> 128

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asp Tyr  
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala  
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asp Gly His Ser Phe Pro Pro  
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly  
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
115 120 125

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Ile Lys Pro Gly Ala  
130 135 140

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr  
145 150 155 160

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Ile  
165 170 175

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
180 185 190

Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
195 200 205

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
210 215 220

Ala Arg Ser Phe Thr Thr Ala Arg Ala Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
245

<210> 129

<211> 715

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Тяжелый компонент биспецифического антитела 5D5M4(NA)x41B01 M12

<400> 129

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu His Gly Leu Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Ser  
435 440 445

Gly Ser  
450 455 460

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln  
465 470 475 480

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
485 490 495

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
500 505 510

Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
515 520 525

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg  
530 535 540

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Tyr Ser Leu  
545 550 555 560

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

565 570 575

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
580 585 590Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro  
595 600 605Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
610 615 620Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu  
625 630 635 640Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp  
645 650 655Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
660 665 670Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
675 680 685Tyr Cys Ala Arg Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp Tyr  
690 695 700Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
705 710 715

&lt;210&gt; 130

&lt;211&gt; 716

&lt;212&gt; БЕЛОК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Тяжелый компонент биспецифического антитела 5A6M6(NA)x41B01 M12

&lt;400&gt; 130

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45Ser Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95Arg Asp Ser Asp Asp Phe Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
355 360 365Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly  
435 440 445

Ser Gly  
450 455 460

Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly  
465 470 475 480

Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn  
485 490 495

Asn Tyr Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
500 505 510

Leu Ile Tyr Ala Asp Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
515 520 525

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu  
530 535 540

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Tyr Ser  
545 550 555 560

Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
565 570 575

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
580 585 590

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
595 600 605

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
610 615 620

Ser Ser Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu  
625 630 635 640

Glu Trp Val Ser Trp Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala  
645 650 655

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
660 665 670

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
675 680 685

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ala Gln Arg Asn Ser Met Arg Glu Phe Asp  
690 695 700

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
705 710 715

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Биспецифическое антитело к антигену созревания В-клеток (BCMA)/4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие  
 антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент; и  
 антитело к 4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент,  
 где антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи,  
 где антитело к 4-1BB или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, включающие по меньшей мере одну аминокислотную





последовательностью SEQ ID NO: 84, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 87;

(2) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 81, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 84, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 88;

(3) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 81, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 84, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 89;

(4) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 82, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 85, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 90; и

(5) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-H1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 83, CDR-H2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 86, а также CDR-H3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 91.

9. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из группы, состоящей из

(1) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-L1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92, CDR-L2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94, а также CDR-L3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 96; и

(2) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего CDR-L1, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93, CDR-L2, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 95, а также CDR-L3, характеризующуюся аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 97.

10. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент содержат варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 65-72.

11. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело к 4-1ВВ или его антигенсвязывающий фрагмент содержат варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 73-80.

12. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, дополнительно содержащее по меньшей мере один пептидный линкер.

13. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.12, где пептидный линкер содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 98 и SEQ ID NO: 99.

14. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело представляет собой IgA, IgD, IgE, IgG или IgM, где антитело представляет собой моноклональное антитело или поликлональное антитело, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или их комбинацию, или

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент модифицированы путем конъюгирования или связывания, гликозилирования, прикрепления метки или их комбинации.

15. Биспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где каждое из антитела к ВСМА или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к 4-1ВВ или его антигенсвязывающего фрагмента независимо представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело или человеческое антитело.

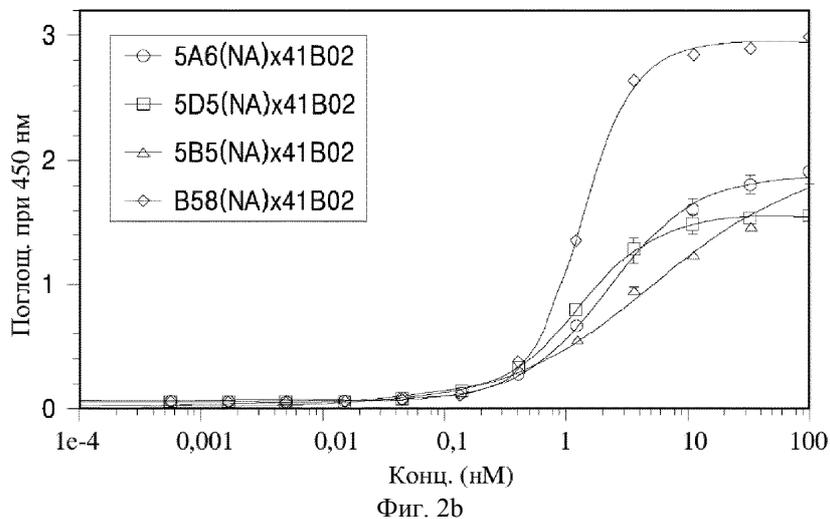
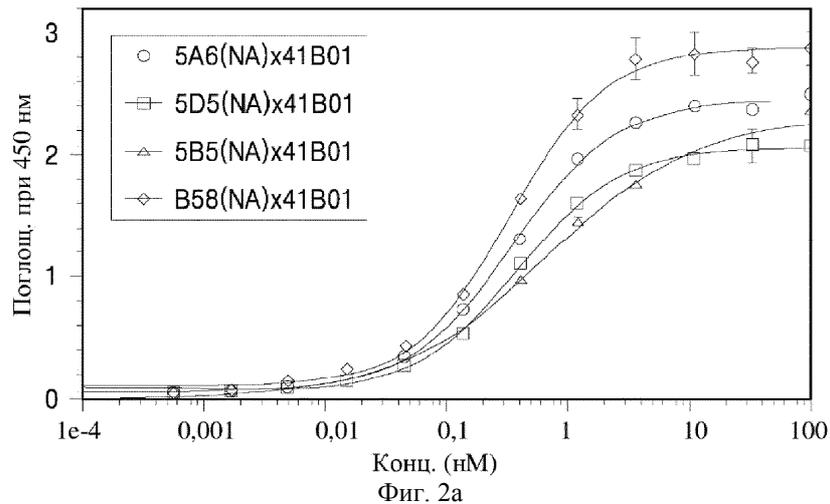
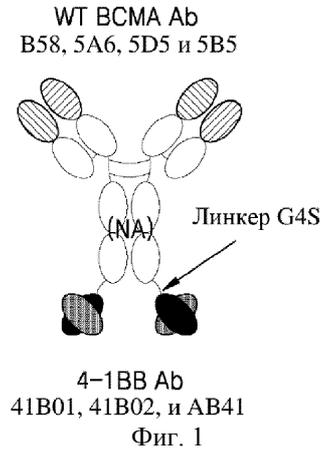
16. Биспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где биспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент представлены в форме IgG-scFv, триомаба, IgG с выступами во впадины (kih) с общими легкими цепями, кроссмаба, IgG с орто-Fab, иммуноглобулина с двойным варибельным доменом (DVD-Ig), 2 в 1-IgG, scFv<sub>2</sub>-Fc, би-наноантитела, биспецифического активатора Т-клеток (BiTE), tandAb, антитела с двойной аффинностью с перенаправлением (DART), DART-Fc, scFv-человеческий сывороточный альбумин (HSA)-scFv, (DNL)-Fab3 док-и-замок, минитела, scFv-Fc, scFv-молнии, scFv, Fab, Fab2 (биспецифический), Fab3 (триспецифический), scFab, Bis-scFv (биспецифический), sdAb (VH/VHH), тетратела, триатела, диатела, Ig верблюда, IgNAR, IgG, биспецифической конструкции, содержащей выступ во впадину, биспецифической конструкции, содержащей диатело, четырехвалентного мультиспецифического антитела, четырехвалентной конструкции, четырехвалентной конструкции с двойным варибельным доменом (DVD), четырехвалентной конструкции IgGScv, четырехвалентной конструкции Mbatryn или составного антитела либо их комбинации.

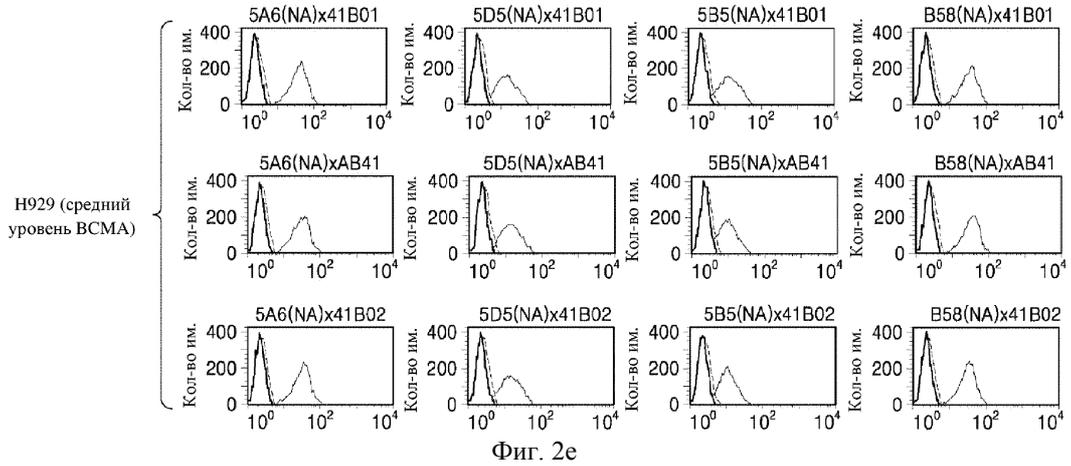
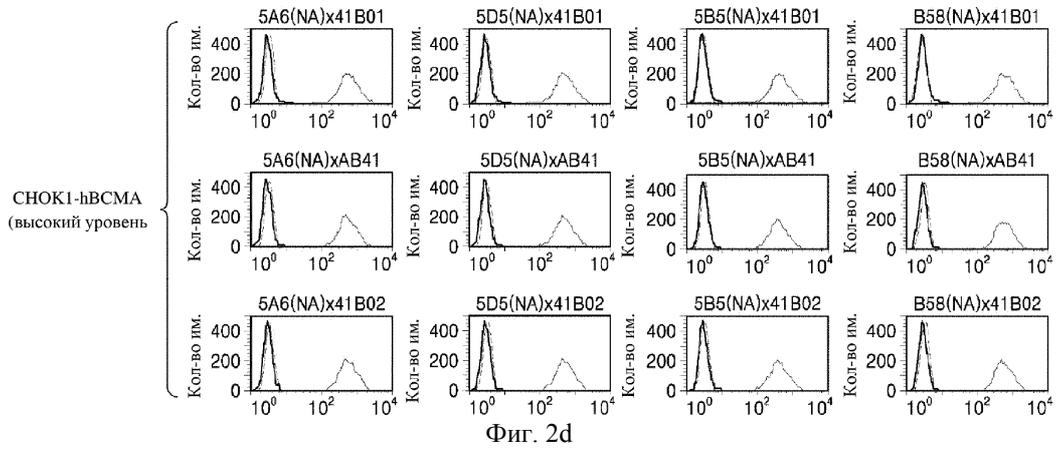
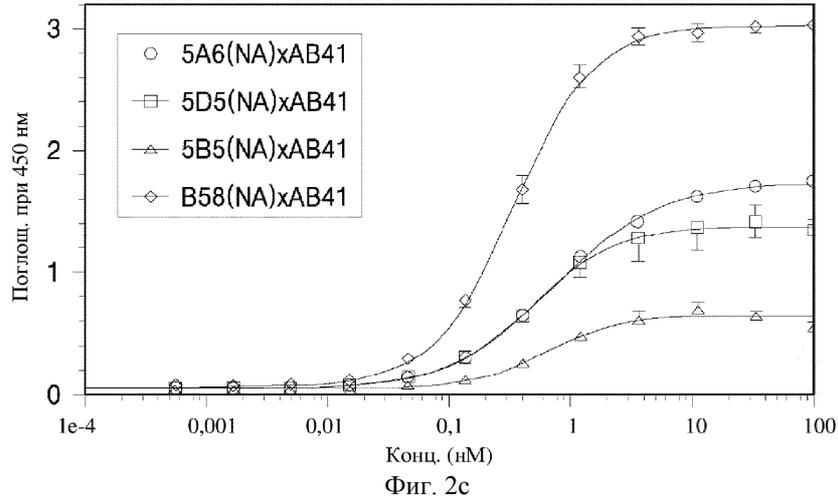
17. Фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, содержащая биспецифическое антитело к ВСМА/4-1ВВ или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-16 и фармацевтически приемлемый носитель.

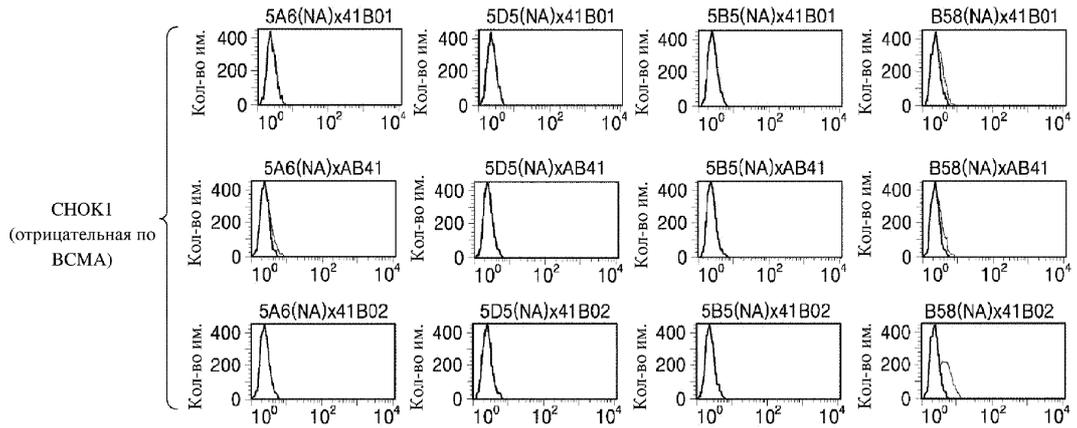
18. Способ предупреждения или лечения заболевания, связанного с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, у индивидуума, причем способ включает введение биспецифического антитела к ВСМА/4-1ВВ или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-16 индивидууму.

19. Способ по п.18, где заболевание, связанное с ВСМА, 4-1ВВ или обоими из них, представляет собой рак.

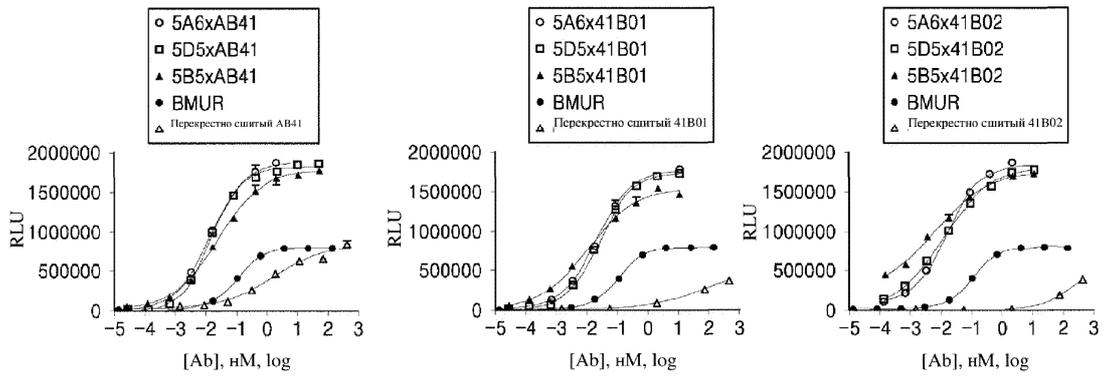
20. Способ по п.19, где рак представляет собой множественную миелому.



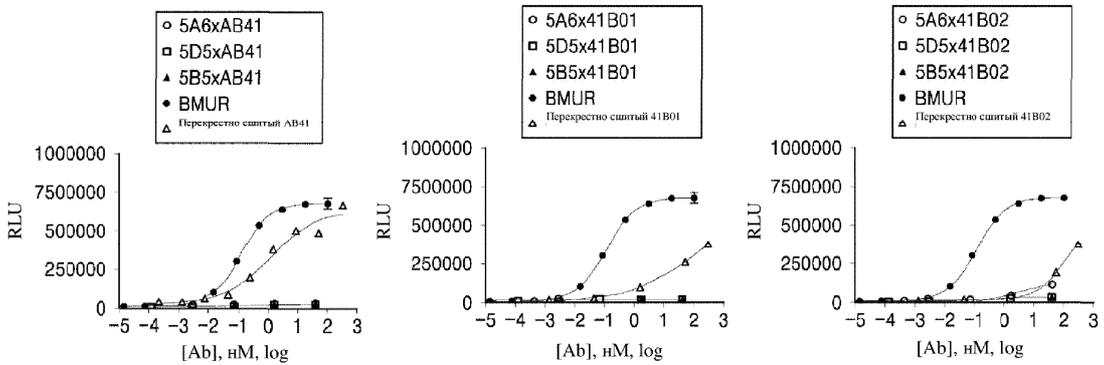




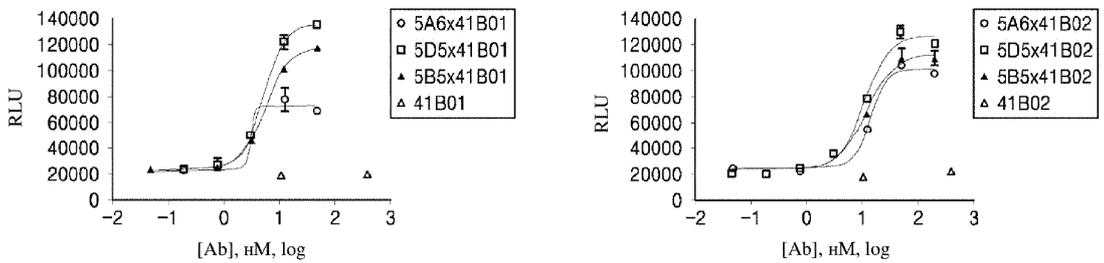
Фиг. 2f



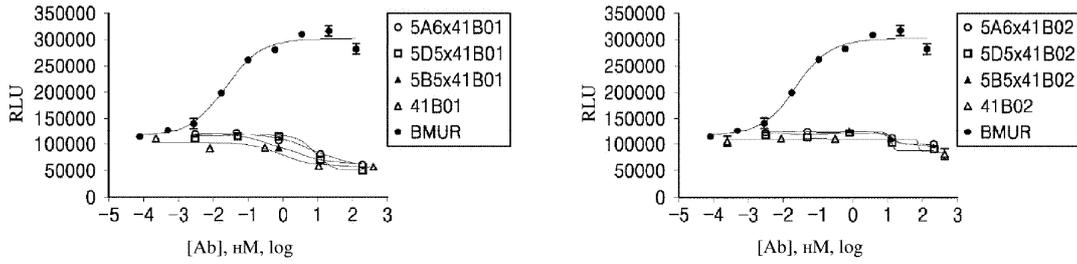
Фиг. 3a



Фиг. 3b

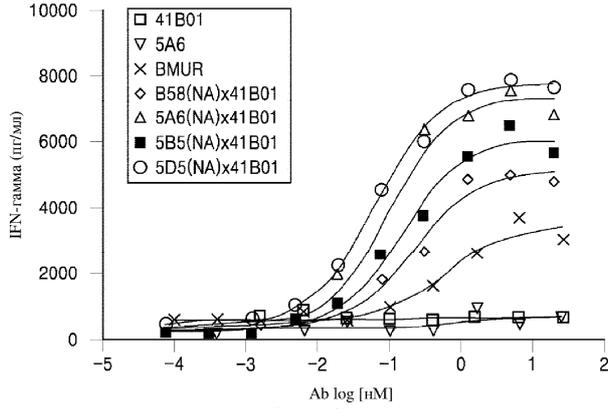


Фиг. 3c



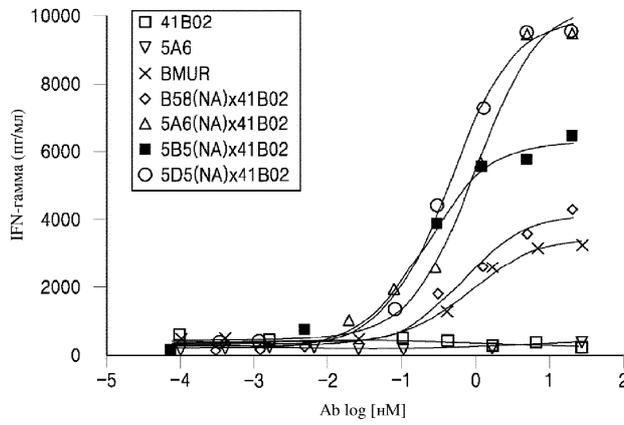
Фиг. 3d

ВСМА(NA)x41B01



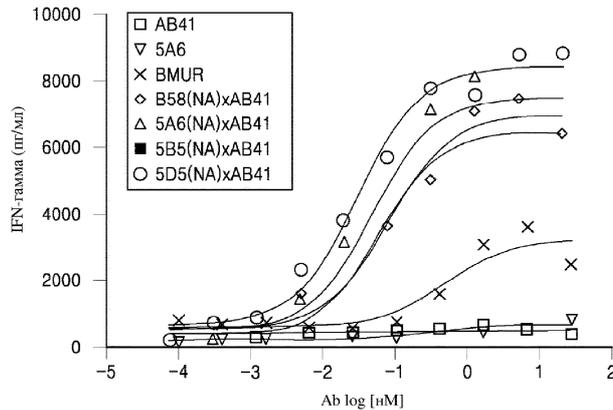
Фиг. 4a

ВСМА(NA)x41B02

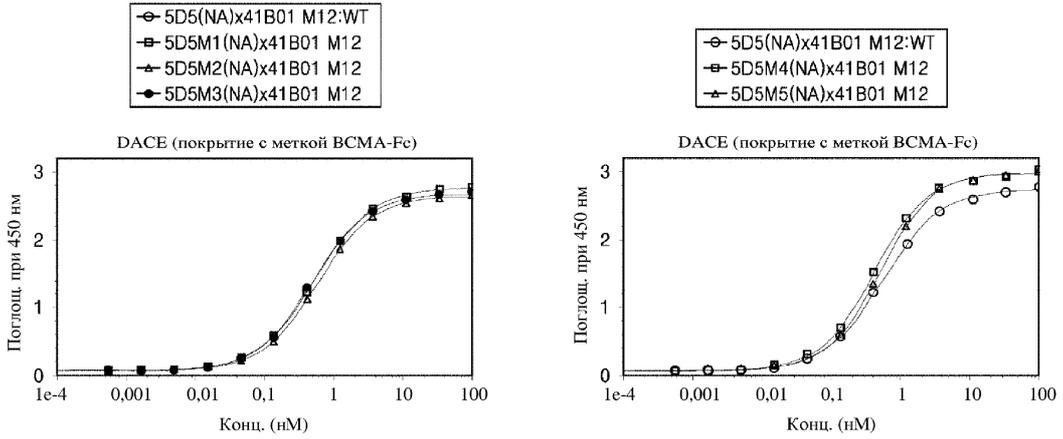


Фиг. 4b

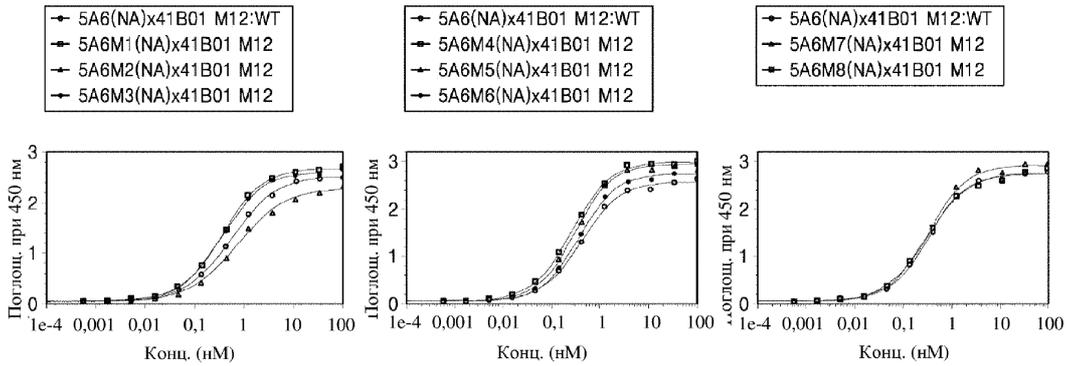
ВСМА(NA)xAB41



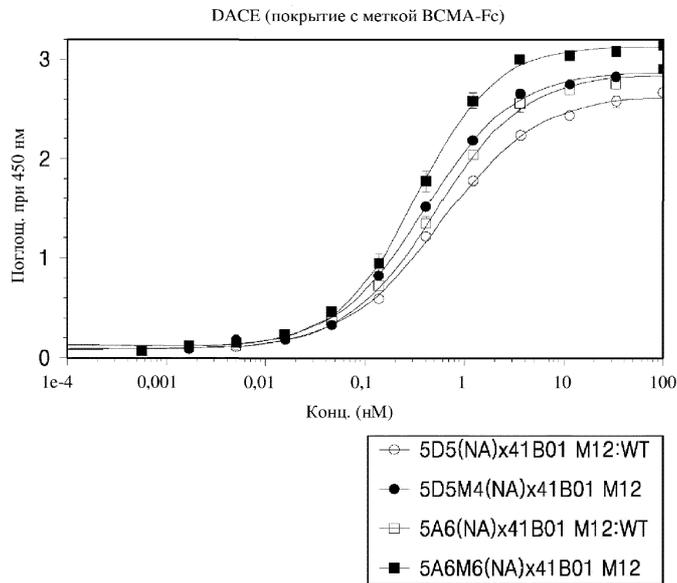
Фиг. 4c



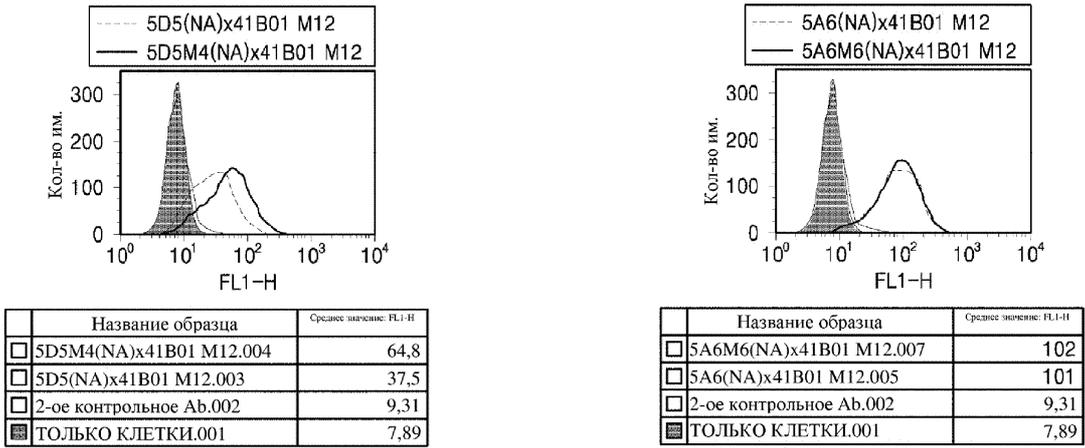
Фиг. 5a



Фиг. 5b

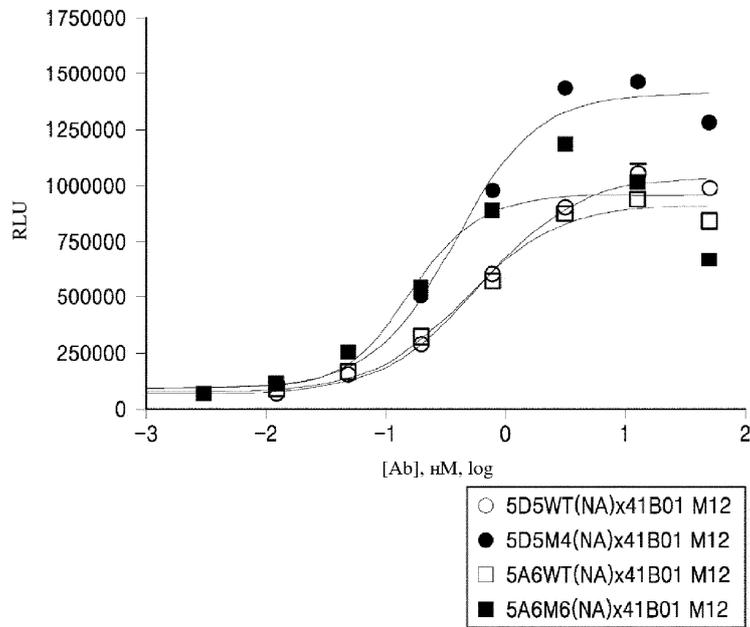


Фиг. 5c



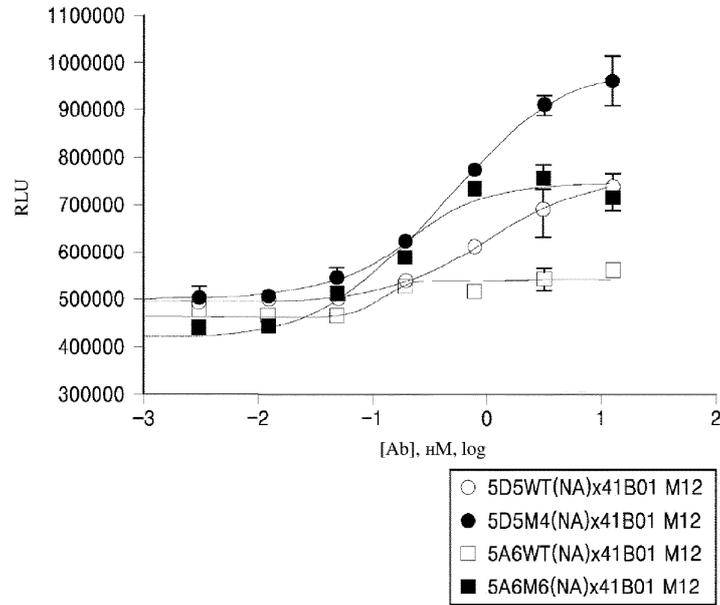
Фиг. 5d

Н929  
раковые клетки с высоким уровнем ВСМА



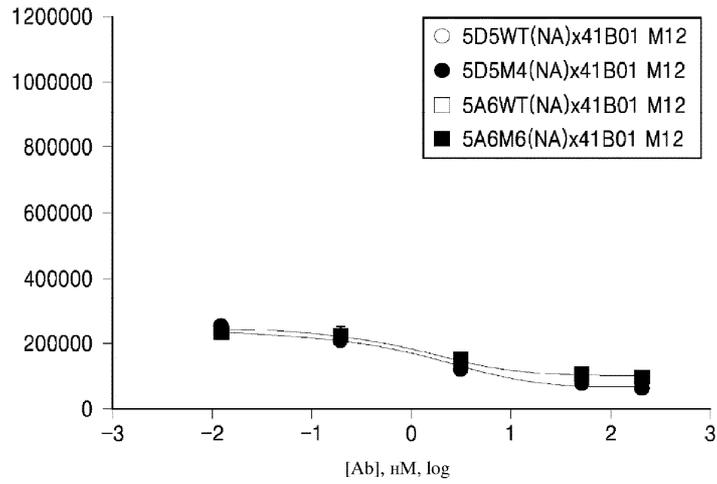
Фиг. 6а

MM1S  
раковые клетки с умеренным уровнем ВСМА



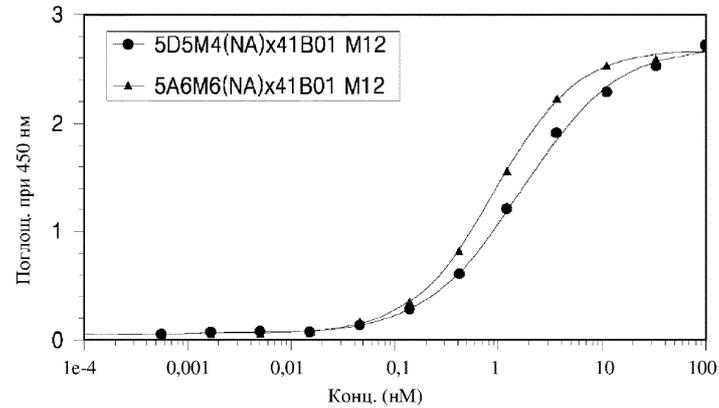
Фиг. 6b

Jurkat  
отрицательные по ВСМА раковые клетки

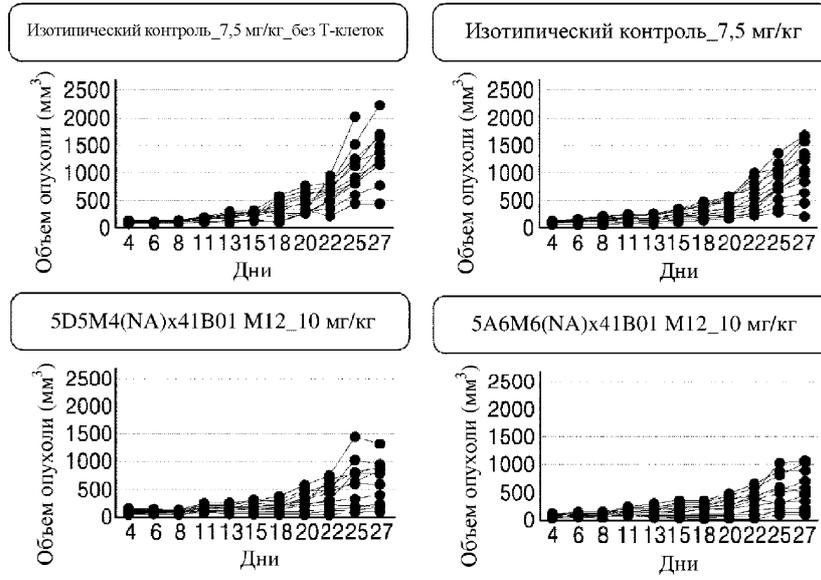


Фиг. 6с

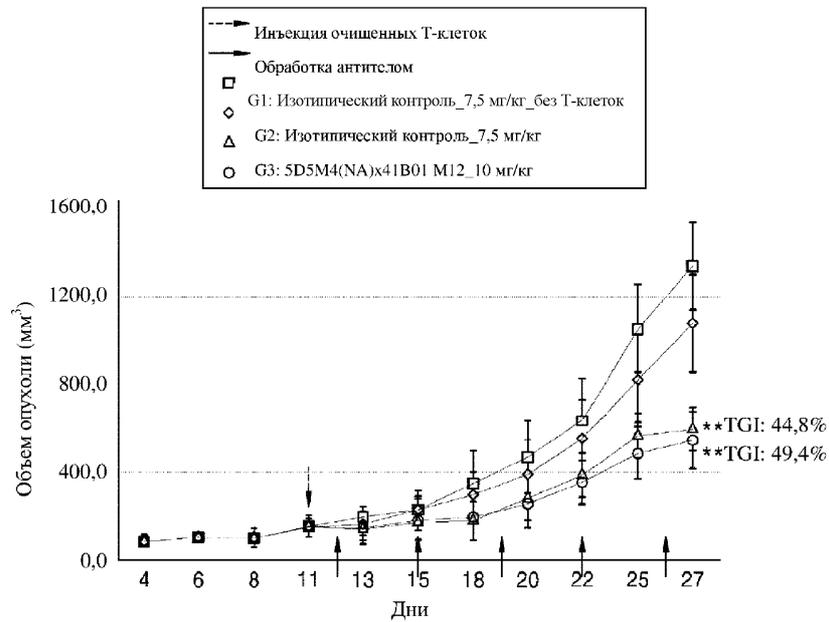
DACE (с покрытием Rhesus BCMA)



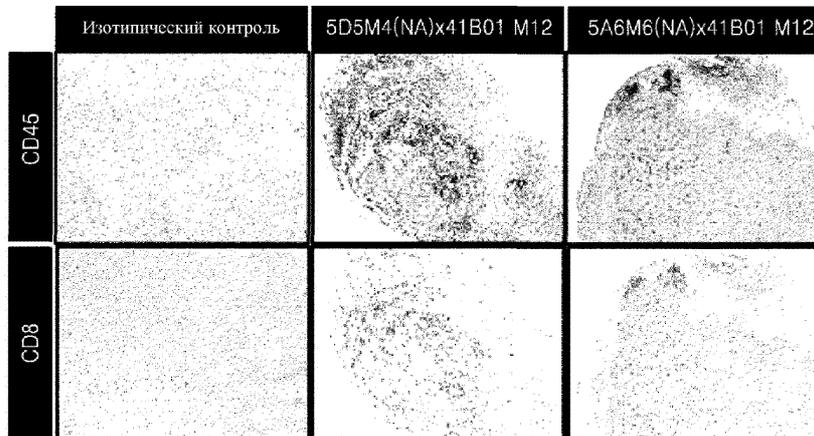
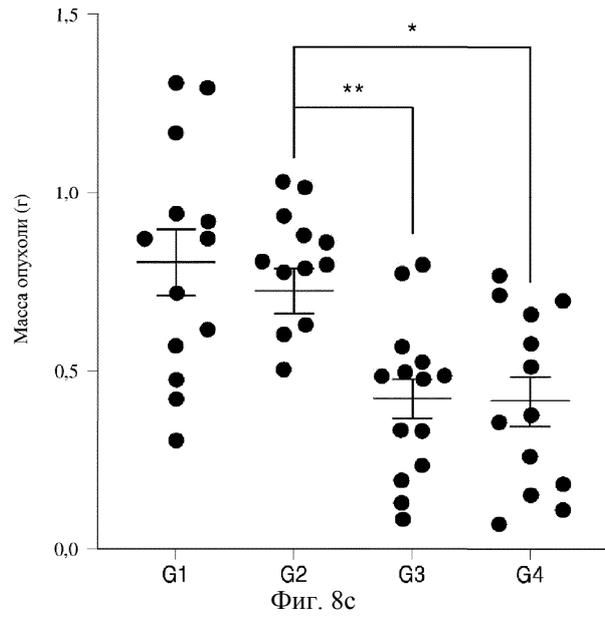
Фиг. 7



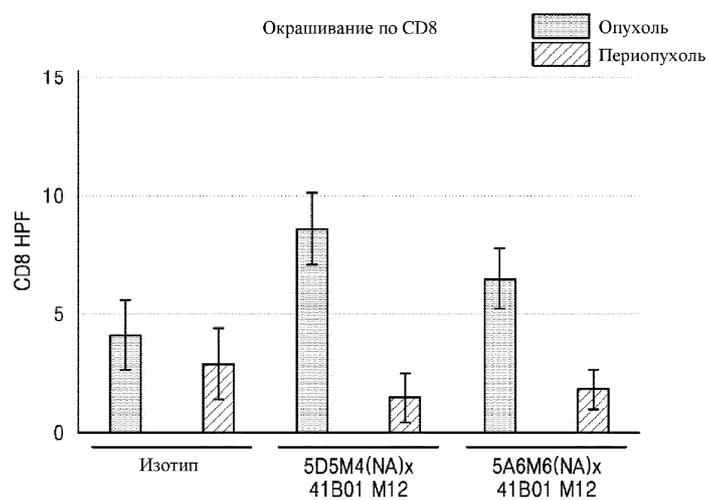
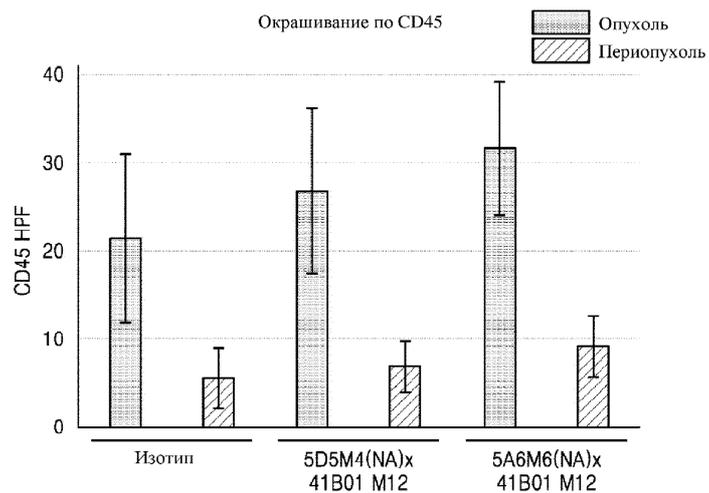
Фиг. 8а



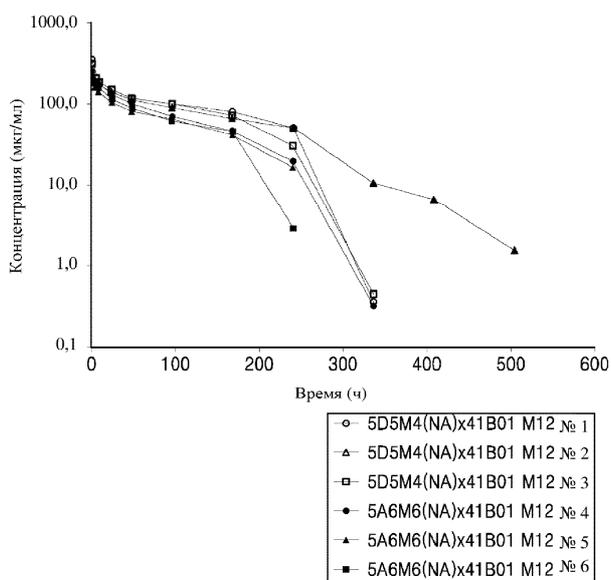
Фиг. 8b



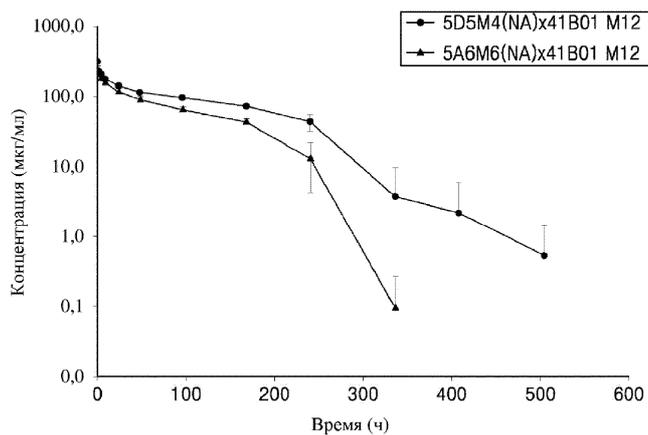
Фиг. 9а



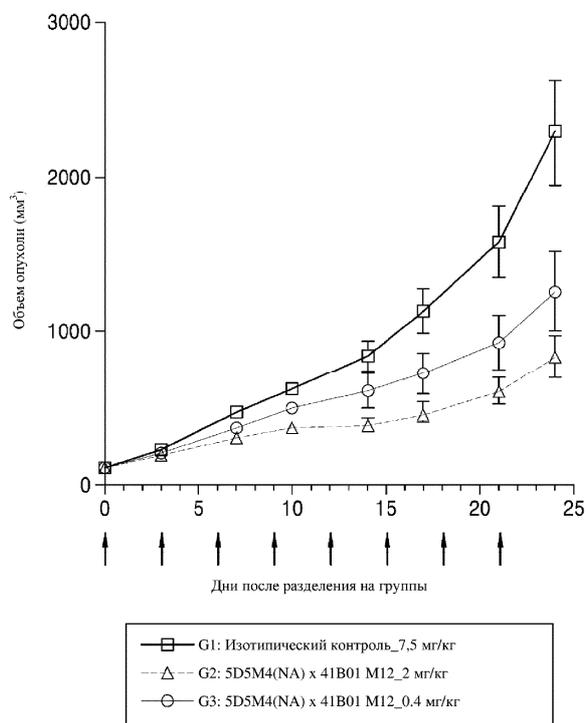
Фиг. 9b



Фиг. 10a



Фиг. 10b



Фиг. 11

