

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **048216**

(13) **B1**

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

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.11.07**

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

**(21)** Номер заявки  
**202290054**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2020.06.12**

---

**(54) ПОЛИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА, СОДЕРЖАЩИЕ ТОЛЬКО ТЯЖЕЛЫЕ ЦЕПИ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С CD22 И CD3**

---

**(31)** 62/861,708

**(32)** 2019.06.14

**(33)** US

**(43)** 2022.03.25

**(86)** PCT/US2020/037566

**(87)** WO 2020/252366 2020.12.17

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ТЕНЕОБИО, ИНК. (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Тринклин Натан, Рангасвами Удая,  
Айер Сухасини, Прабхакар Киртхана,  
Угамрадж Харшад (US)**

**(74)** Представитель:  
**Фелицына С.Б. (RU)**

**(56)** WO-A1-2018052503

UDAYA RANGASWAMY ET AL.: "A novel T-cell bispecific antibody platform for efficient T-cell mediated killing of tumor cells with minimal cytokine release", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 36, no. 5 suppl, 26 February 2018 (2018-02-26), XP055727126, DOI: 10.1200/JCO.2018.36.5\_suppl.209, the whole document

NATHAN D. TRINKLEIN ET AL.: "Efficient tumor killing and minimal cytokine release with novel T-cell agonist bispecific antibodies", MABS, vol. 11, no. 4, 19 May 2019 (2019-05-19), pages 639-652, XP055690535, US, ISSN: 1942-0862, DOI: 10.1080/19420862.2019.1574521, the whole document, in particular, figure 3

MATHIEU DONDELINGER ET AL.: "Understanding the Significance and Implications of Antibody Numbering and Antigen-Binding Surface/Residue Definition", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 9, 16 October 2018 (2018-10-16), pages 1-15, XP055572450, DOI: 10.3389/fimmu.2018.02278, the whole document, in particular page 9, left-hand column-right-hand column, bridging paragraph

---

**(57)** Раскрыты полиспецифические человеческие антитела, содержащие только тяжелые цепи (например, UniAb™), которые связываются с CD22 и CD3, а также способы получения таких антител, композиции, включая фармацевтические композиции, содержащие такие антитела, и их применение для лечения нарушений, которые характеризуются экспрессией CD22.

---

**B1**

**048216**

**048216 B1**

### Перекрестные ссылки на родственные заявки

Заявка на данный патент испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/861708, поданной 14 июня 2019 г., описание которой включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

### Перечень последовательностей

Настоящее изобретение содержит Перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и, таким образом, полностью включен в настоящее описание посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 10 июля 2020 г., называется TNO-0017-WO\_SL.txt и имеет размер 115348 байт.

### Область техники

Настоящее изобретение относится к человеческим полиспецифическим антителам, содержащим только тяжелые цепи, (например, UniAb™), которые связываются с CD22 и CD3. Данное изобретение также относится к способам получения таких антител, к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащие такие антитела, и их применению для лечения нарушений, которые характеризуются экспрессией CD22.

### Уровень техники

#### CD22.

CD22, также известный как SIGLEC-2 (UniProt P20273), представляет собой рецептор клеточной поверхности, который экспрессируется на зрелых В-клетках. CD22 содержит несколько доменов Ig и является членом суперсемейства иммуноглобулинов. Внеклеточный домен CD22 взаимодействует с фрагментами сиаловой кислоты, включая те, которые присутствуют на белке поверхности клетки CD45. Считается, что CD22 функционирует как ингибирующий рецептор для сигналинга рецепторов В-клеток. Наряду с CD20 и CD19 ограниченная В-клетками экспрессия CD22 делает его привлекательной мишенью для терапевтического лечения В-клеточных злокачественных новообразований. Моноклональные антитела, специфические к CD22, описаны в литературе (например, Jabbour, Elias, et al. "Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia." *Blood* 125.26 (2015): 4010-4016) и использовались в терапевтических целях в качестве стандартных моноклональных антител (например, эпратузумаб), а также в качестве конъюгатов антитело-лекарственное средство (инотузумаб озогамин). Кроме того, Т-клетки с химерным антигенным рецептором к CD22 использовали в клинике для лечения лейкоза (Fry, Terry J., et al. "CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy." *Nature medicine* (2017)).

Антитела, содержащие только тяжелые цепи.

В обычном антителе IgG, ассоциация тяжелой цепи и легкой цепи частично обусловлена гидрофобным взаимодействием между константной областью легкой цепи и константным доменом CH1 тяжелой цепи. В областях тяжелой цепи каркаса 2 (FR2) и каркаса 4 (FR4) имеются дополнительные остатки, которые также способствуют этому гидрофобному взаимодействию между тяжелой и легкой цепями.

Известно, однако, что сыворотка верблюдовых (подгруппа Tylopoda, которая включает верблюдов, дромедаров и лам) содержит основной тип антител, состоящих исключительно из парных H-цепей (антитела, содержащие только тяжелые цепи, или UniAb™). UniAb™ Camelidae (Camelus dromedarius, Camelus bactrianus, Lama glama, Lama guanaco, Lama alpaca и Lama vicugna) имеют уникальную структуру, состоящую из одного варибельного домена (VHH), шарнирной области и двух константных доменов (CH2 и CH3), которые высокоомологичны доменам CH2 и CH3 классических антител. Данные UniAb™ не имеют первого домена константной области (CH1), который присутствует в геноме, но удаляется во время процессинга мРНК. Отсутствие домена CH1 объясняет отсутствие легкой цепи в UniAb™, поскольку этот домен является местом присоединения константного домена легкой цепи. Такие UniAb™ естественным образом эволюционировали для придания антигенсвязывающей специфичности и высокой аффинности тремя CDR из обычных антител, или их фрагментов (Muyldermans, 2001; *J Biotechnol* 74:277-302; Revets et al., 2005; *Expert Opin Biol Ther* 5:111-124). Хрящевые рыбы, такие как акулы, также выработали особый тип иммуноглобулина, обозначенный как IgNAR, который лишен легких полипептидных цепей и полностью состоит из тяжелых цепей. Молекулами IgNAR можно манипулировать с помощью молекулярной инженерии для получения варибельного домена полипептида с одной тяжелой цепью (vNAR) (Nuttall et al. *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall et al. *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley et al., *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003)).

Способность антител, содержащих только тяжелые цепи, лишенных легкой цепи, связывать антиген была установлена в 1960-х годах (Jaton et al. (1968) *Biochemistry*, 7, 4185-4195). Тяжелая цепь иммуноглобулина, физически отделенная от легкой цепи, сохранила 80% антигенсвязывающей активности относительно тетрамерного антитела. Sitia et al. (1990) *Cell*, 60, 781-790 продемонстрировали, что удаление домена CH1 из перегруппированного гена  $\mu$  мыши приводит к получению антитела, содержащего только тяжелые цепи, лишенного легкой цепи, в клеточной культуре млекопитающих. Вырабатываемые антитела сохраняли специфичность связывания VH и эффекторные функции.

Антитела, содержащие только тяжелые цепи, с высокой специфичностью и аффинностью могут со-

здаваться против различных антигенов посредством иммунизации (van der Linden, R. H., et al. *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)), а часть VHH может быть легко клонирована и экспрессирована в дрожжах (Frenken, L. G. J., et al. *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Их уровни экспрессии, растворимости и стабильности значительно выше, чем у классических фрагментов F(ab) или Fv (Ghahroudi, M. A. et al. *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)).

Мыши, у которых  $\lambda$  (лямбда) локус легкой (L)-цепи и/или  $\lambda$  и  $\kappa$  (каппа) локусы L-цепи были функционально подвергнуты сайленсингу, и антитела, продуцируемые такими мышами, описаны в патентах США № 7541513 и 8367888. Рекомбинантное продуцирование антител, содержащих только тяжелую цепь, у мышей и крыс было описано, например, в WO2006008548; публикации заявки на патент США № 20100122358; Nguyen et al., 2003, *Immunology*; 109(1), 93-101; Brüggemann et al., *Crit. Rev. Immunol.*; 2006, 26(5):377-90; и Zou et al., 2007, *J Exp Med*; 204(13): 3271-3283. Получение нокаутных крыс с помощью микроинъекций эмбрионам цинк-пальцевой нуклеазы описано в Geurts et al., 2009, *Science*, 325(5939):433. Растворимые антитела, содержащие только тяжелые цепи, и трансгенные грызуны, содержащие гетерологичный локус тяжелой цепи, продуцирующий такие антитела, описаны в патентах США № 8883150 и 9365655. Структуры CAR-T, содержащие однодоменные антитела в качестве связывающего (нацеливающего) домена, описаны, например, в Iri-Sofla et al., 2011, *Experimental Cell Research* 317:2630-2641 и Jammani et al., 2014, *Biochim Biophys Acta*, 1840:378-386.

### Сущность изобретения

Аспекты изобретения относятся к антителам, содержащим только тяжелые цепи, включая, но не ограничиваясь, UniAb™, с аффинностью связывания с CD22. Дальнейшие аспекты изобретения относятся к способам получения таких антител, композициям, содержащим такие антитела, и их применению для лечения нарушений, которые характеризуются экспрессией CD22.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, которые связываются с CD3, содержащие: вариабельную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1, имеющую две или менее замен в SEQ ID NO: 85; и/или (b) последовательность CDR2, содержащую две или менее замен в SEQ ID NO: 86; и/или (c) последовательность CDR3, содержащую две или менее замен в SEQ ID NO: 87; и вариабельную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи присутствуют в каркасе VH человека. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи в каркасе VH человека, при этом каждая последовательность CDR содержит последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична любой из SEQ ID NO: 85-87; и связывающее соединение также содержит вариабельную область легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение включает: вариабельную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1, имеющую две или менее замен в SEQ ID NO: 85; и (b) последовательность CDR2, содержащую две или менее замен в SEQ ID NO: 86; и (c) последовательность CDR3, содержащую две или менее замен в SEQ ID NO: 87; и связывающее соединение также содержит вариабельную область легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит: вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 87; и связывающее соединение также содержит вариабельную область легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 в каркасе VL человека, при этом каждая последовательность CDR содержит последовательность с 3 или меньшим количеством аминокислотных замен относительно последовательности CDR или набора последовательностей CDR в SEQ ID NO: 92; или при этом последовательности CDR содержат последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична последовательности CDR или набору последовательностей CDR в SEQ ID NO: 92. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 90. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO: 91. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 91. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO: 92. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие первую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD22, и вторую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD3, при этом первая связывающая единица содержит: (а) CDR1, имеющую две или менее замен в любой из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-10; и/или (b) CDR2, имеющую две или менее замен в любой из аминокислотных последовательностей

SEQ ID NO: 11-17; и/или (с) CDR3, имеющую две или менее замен в любой из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 18-23. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 первой связывающей единицы присутствуют в каркасе человека. В некоторых вариантах осуществления первая связывающая единица дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1.

В некоторых вариантах осуществления первая связывающая единица содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-10; и/или (б) последовательность CDR2, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-17; и/или (с) последовательность CDR3, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18-23.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит: (а) последовательность CDR1, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-10; и (б) последовательность CDR2, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-17; и (с) последовательность CDR3, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18-23.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит: (а) последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 11 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 18; (б) последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 19; или (с) последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 24-84. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 24-84. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит последовательность переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие первую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD22, и вторую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD3, при этом первая связывающая единица содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1 формулы:  $G X_1 S I X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 Y$  (SEQ ID NO: 104), где  $X_1$  представляет собой D или G;  $X_2$  представляет собой S, T, I или N;  $X_3$  представляет собой S или D;  $X_4$  представляет собой G, S или N;  $X_5$  представляет собой D, G или S; и  $X_6$  представляет собой Y или H; и (б) последовательность CDR2 формулы:  $X_7 X_8 Y X_9 G X_{10} X_{11}$  (SEQ ID NO: 105), где  $X_7$  представляет собой I или V;  $X_8$  представляет собой Y или H;  $X_9$  представляет собой S или T;  $X_{10}$  представляет собой A, V или S; и  $X_{11}$  представляет собой T или A; и (с) последовательность CDR3 формулы:  $X_{12} R X_{13} D S S X_{14} W R S$  (SEQ ID NO: 106), где  $X_{12}$  представляет собой T, A или K;  $X_{13}$  представляет собой D или E; и  $X_{14}$  представляет собой N или S.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие первую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD22, и вторую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD3, при этом первая связывающая единица содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в каркасе VH человека, причем последовательности CDR содержат последовательность, имеющую две или менее замен в последовательности CDR, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-23.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие первую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD22, и вторую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD3, причем первая связывающая единица содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в каркасе VH человека, в которой последовательности CDR выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-23.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие первую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD22, и вторую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD3, при этом первая связывающая единица содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 11 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 18; или (б) последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 19; или (с) последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 20 в каркасе VH человека.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение находится в формате CAR-T.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие: (i) переменную область тяжелой цепи, имеющую аффинность связывания с CD3, содержащую последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 87 в каркасе VH человека; (ii) переменную область легкой цепи, содержащую по-

последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 90 в каркасе VL человека; и (iii) антигенсвязывающий домен антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи, содержащий последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 11 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 18, в каркасе VH человека.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, содержащие: (i) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аффинность связывания с CD3, содержащую последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 87 в каркасе VH человека; (ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 90 в каркасе VL человека; и (iii) антигенсвязывающий домен антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи, содержащий последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 19, в каркасе VH человека.

Аспекты изобретения включают полиспецифическое связывающее соединение, содержащее: (i) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аффинность связывания с CD3, содержащую последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 87 в каркасе VH человека; (ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 90 в каркасе VL человека; и (iii) антигенсвязывающий домен антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи, содержащий последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 20, в каркасе VH человека.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит область Fc IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления область Fc IgG1 человека представляет собой подвергнутую сайленсингу область Fc IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое связывающее соединение содержит область Fc IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления область Fc IgG4 человека представляет собой подвергнутую сайленсингу область Fc IgG4 человека.

Аспекты изобретения включают фармацевтические композиции, содержащие полиспецифическое связывающее соединение, как описано в данном документе.

Аспекты изобретения включают способы лечения В-клеточного нарушения, характеризующегося экспрессией CD22, включающие введение субъекту с указанным нарушением полиспецифического связывающего соединения или фармацевтической композиции, как описано в данном документе.

Аспекты по изобретению включают применение полиспецифического связывающего соединения при приготовлении лекарственного средства для лечения В-клеточного нарушения, характеризующегося экспрессией CD22.

В некоторых вариантах осуществления нарушение представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ). В некоторых вариантах осуществления нарушение представляет собой неходжкинскую лимфому (НХЛ). В некоторых вариантах осуществления нарушение представляет собой системную красную волчанку (СКВ). В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой ревматоидный артрит (РА). В некоторых вариантах осуществления нарушение представляет собой рассеянный склероз (МС).

Аспекты изобретения включают полинуклеотиды, кодирующие полиспецифическое связывающее соединение, как описано в данном документе. Аспекты изобретения включают векторы, содержащие полинуклеотиды, как описано в данном документе. Аспекты изобретения включают клетки, содержащие описанные в данном документе векторы.

Аспекты изобретения включают способы получения полиспецифического связывающего соединения, как описано в данном документе, включающие выращивание клетки, как описано в данном документе, в условиях, допускающих экспрессию связывающего соединения, и выделение связывающего соединения из клетки.

Аспекты изобретения включают способы получения полиспецифического связывающего соединения, как описано в данном документе, включающие иммунизацию животного UniRat CD22 и идентификацию последовательностей CD22-связывающих тяжелых цепей.

Аспекты изобретения включают способы лечения, включающие введение индивидууму эффективной дозы полиспецифического связывающего соединения, как описано в данном документе, или фармацевтической композиции, как описано в данном документе.

Данные и другие аспекты будут дополнительно объяснены в остальной части описания, включая примеры.

### Краткое описание графических материалов

На фиг. 1А представлен график, изображающий опосредованную Т-клетками цитотоксичность CD22-положительных клеток (Daudi) с использованием покоящихся человеческих Т-клеток.

На фиг. 1В представлен график, изображающий кривые дозозависимой зависимости высвобождения цитокинов при отдыхе человеческих пан-Т-клеток, инкубированных с CD22-положительными клетками (Daudi) и обработанных полиспецифическим связывающим соединением CD22xCD3\_F2F и положительным контролем.

На фиг. 2А представляет график, изображающий опосредованную Т-клетками цитотоксичность CD22-положительных клеток (SUDHL10) с использованием покоящихся человеческих пан-Т-клеток.

На фиг. 2В представлен график, изображающий кривые дозозависимой зависимости высвобождения цитокинов при покоящихся пан-Т-клеток человека, инкубированных с CD22-положительными клетками (SUDHL10) и обработанных полиспецифическим связывающим соединением анти-CD22xCD3\_F2F и положительным контролем.

На фиг. 3А показана серия графиков, изображающих опосредованную Т-клетками цитотоксичность CD22-положительных клеток (RI-1) с использованием покоящихся человеческих Т-клеток.

На фиг. 3В показана серия графиков, изображающих кривые доза-ответ высвобождения цитокинов покоящимися пан-Т-клетками человека, инкубированными с CD22-положительными клетками (RI-1) и обработанными полиспецифическим связывающим соединением анти-CD22xCD3\_F2F и положительным контролем.

На фиг. 4 показана серия графиков, изображающих опосредованную Т-клетками цитотоксичность CD22-положительных клеток с использованием активированных пан-Т-клеток человека.

На фиг. 5 показана серия графиков, изображающих связывание клетками биспецифических антител против CD22 и CD3.

На фиг. 6 показан план лечения для определения *in vivo* эффективности полиспецифического связывающего соединения анти-CD22xCD3\_F2F на ксенотрансплантатах Daudi.

На фиг. 7 представлен график, изображающий средний объем опухоли в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов Daudi.

На фиг. 8 представлен график, изображающий массу тела в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов Daudi.

На фиг. 9 представлен график, изображающий процентное изменение массы тела в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов Daudi.

На фиг. 10 представлен график, изображающий средний объем опухоли в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов Daudi.

На фиг. 11 показана серия графиков, изображающих отдельные измерения опухоли в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов Daudi.

На фиг. 12 представлен график, изображающий массу тела в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов Daudi.

На фиг. 13 представлен график, изображающий процентное изменение массы тела в зависимости от дней после имплантации опухоли на мышинной модели ксенотрансплантата Daudi.

На фиг. 14А представлена схема биспецифического связывающего соединения, имеющего одну связывающую единицу, которая специфически связывается с CD3, и одну связывающую единицу, которая специфически связывается с CD22.

На фиг. 14В представлены иллюстрации различных конструкций CAR-T, которые могут включать один или более связывающих доменов в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 15А представлена схема биспецифической связывающей молекулы, имеющей одну связывающую единицу, которая специфически связывается с CD3, и одну связывающую единицу, которая специфически связывается с CD22 (моновалентную, моноспецифическую в отношении CD22).

На фиг. 15В представлена схема биспецифической связывающей молекулы, имеющей одну связывающую единицу, которая специфически связывается с CD3, и две связывающие единицы, которые специфически связываются с CD22 (двухвалентная, моноспецифическая в отношении CD22).

На фиг. 15С представлена схема биспецифической связывающей молекулы, имеющей одну связывающую единицу, которая специфически связывается с CD3, и две связывающие единицы, которые специфически связываются с CD22 (двухвалентная, бипаратопная в отношении CD22).

На фиг. 16 представлена таблица, демонстрирующая данные для различных видов биологической активности антител к CD22 в соответствии с вариантами осуществления изобретения.

На фиг. 17 представлена серия графиков, демонстрирующих титр сыворотки в зависимости от разведения.

### Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления

При практической реализации данного изобретения применяют, если не указано иное, стандартные методы молекулярной биологии (включая рекомбинантные методы), микробиологии, клеточной биологии, биохимии и иммунологии, которые известны специалистам в данной области техники. Такие методы полностью описаны в литературе, например, в "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook et al., 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R. I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, and periodic updates); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis et al., ed., 1994); "A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988); "Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas et al., 2001); Harlow, Lane and Harlow, Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol No. I, Cold Spring Harbor Laboratory (1998); и Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory; (1988).

Когда приводится диапазон значений, следует понимать, что данное изобретение охватывает каждое промежуточное значение с точностью до десятого знака нижнего предела, если в контексте явно не указано иное, между верхним и нижним пределом этого диапазона, а также любое другое указанное или промежуточное значение в таком указанном диапазоне. Верхний и нижний пределы данных меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны и также включены в данное изобретение с учетом любого специальным образом исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключаящие один или оба этих включенных предела, также включены в данное изобретение.

Если не указано иное, остатки антител в данном документе нумеруются в соответствии с системой нумерации Kabat (например, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

Для обеспечения полного понимания данного изобретения в нижеследующем подробном описании изложены многочисленные конкретные детали. Однако для специалиста в данной области техники будет очевидно, что настоящее изобретение может применяться на практике и без одной или более указанных конкретных деталей. В других случаях общеизвестные отличительные признаки и процедуры, хорошо известные специалистам в данной области техники, не были описаны во избежание затруднения понимания изобретения.

Все приведенные в данном документе ссылки, включая патентные заявки и публикации, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

#### I. Определения.

Под термином "содержащий" подразумевается, что перечисленные элементы требуются для композиции/способа/набора, однако для формирования композиции/способа/набора и тому подобного в рамках формулы изобретения могут быть включены и другие элементы.

Под термином "состоящий по существу из" подразумевается ограничение рамок описанной композиции или способа указанными материалами или поэтапными действиями, не оказывающими существенного влияния на основную и новую характеристику(и) объекта изобретения.

Под термином "состоящий из" подразумевается исключение любого элемента, поэтапного действия или ингредиента, не указанного в формуле изобретения, из композиции, способа или набора.

Остатки антител в данном документе нумеруются в соответствии с системой нумерации Kabat и системой нумерации EU. Система нумерации Kabat в общем случае используется для обозначения остатка в переменном домене (приблизительно остатки 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "Система нумерации EU" или "индекс EU", как правило, используется для обозначения аминокислотного остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU, представленный в Kabat et al., ранее). "Индекс EU по Kabat" относится к нумерации аминокислотных остатков антитела человека IgG1 EU. Если не указано иначе, ссылки на номера остатков в переменном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации Kabat. Если не указано иначе, ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации EU.

Антитела, также называемые иммуноглобулинами, как правило, содержат по меньшей мере одну тяжелую цепь и одну легкую цепь, где аминоконцевой домен тяжелой и легкой цепей является переменным по последовательности, поэтому, как правило, его называют доменом переменной области или переменным доменом тяжелой цепи (VH) или переменным доменом легкой цепи (VL). Эти два домена, как правило, связываются с образованием области специфического связывания, хотя, как будет обсуждаться в данном документе, специфическое связывание также может быть получено с переменными последовательностями только тяжелых цепей, а в данной области техники известный и используются различные природные конфигурации антител.

"Функциональное" или "биологически активное" антитело или антигенсвязывающая молекула (включая антитела, содержащие только тяжелые цепи и полиспецифические (например, биспецифические) трехцепочечные антителоподобные молекулы (ТСА), описанные в данном документе), является молекулой, способной оказывать одно или более своих природных активностей действий в структурных,

регуляторных, биохимических или биофизических событиях. Например, функциональное антитело или другая связывающая молекула, например, ТСА, может обладать способностью специфически связывать антиген, а связывание может, в свою очередь, вызывать или изменять клеточное или молекулярное событие, такое как передача сигнала или ферментативная активность. Функциональное антитело или другая связывающая молекула, например, ТСА, также может блокировать лигандную активацию рецептора или действовать в качестве агониста или антагониста. Способность антитела или другой связывающей молекулы, например, ТСА, проявлять одну или более своих природных активностей, зависит от нескольких факторов, включая правильный фолдинг и сборку полипептидных цепей.

Термин "антитело" в данном документе используется в самом широком смысле и, в частности, охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мономерные, димерные, мультимерные, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), антитела, содержащие только тяжелые цепи, трехцепочечные антитела, одноцепочечный Fv (scFv), наноантитела и т. д., а также включают фрагменты антител, если они проявляют желаемую биологическую активность (Miller et al (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Антитела могут быть мышьиными, человеческими, гуманизированными, химерными или полученными из других видов.

Термин "антитело" может относиться к полноразмерной тяжелой цепи, полноразмерной легкой цепи, интактной молекуле иммуноглобулина; или иммунологически активной части любого из этих полипептидов, то есть к полипептиду, который содержит антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывает антиген представляющей интерес мишени или ее часть, причем такие мишени включают, но не ограничиваются ими, раковые клетки или клетки, которые вырабатывают аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Описанный в данном документе иммуноглобулин может быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса молекулы иммуноглобулина, включая сконструированные подклассы с измененными Fc-частями, которые обеспечивают снижение или усиление активности эффекторных клеток. Иммуноглобулины могут быть получены из любых видов. В одном аспекте иммуноглобулин имеет преимущественно человеческое происхождение.

Термин "моноклональное антитело" в данном документе относится к антителу, полученному из популяции в значительной степени однородных антител, то есть отдельные антитела в составе популяции являются идентичными, за исключением мутаций, происходящих по естественным причинам, которые могут присутствовать в небольших количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными и направлены против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от препаратов обычных (поликлональных) антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одиночной детерминанты на антигене. Моноклональные антитела в соответствии с данным изобретением могут быть получены гибридным методом, впервые описанным Kohler et al. (1975) *Nature* 256:495, также могут быть получены, например, способами получения рекомбинантного белка (см., например, патент США № 4816567).

Термин "вариабельный", в контексте данного документа, в связи с антителами относится к тому факту, что последовательности некоторых частей вариабельных доменов антитела сильно различаются у разных антител и вносят вклад в связывание и специфичность каждого конкретного антитела по отношению к его конкретному антигену. В то же время вариабельность не является равномерно распределенной по вариабельным доменам антител. Она сосредоточена в трех сегментах вариабельных доменов как легкой, так и тяжелой цепи, называемых гипервариабельными областями. Более консервативные фрагменты вариабельных доменов называются каркасными областями (FR). Вариабельные домены нативных легких и тяжелых цепей содержат по четыре FR, преимущественно принимающих конфигурацию  $\beta$ -листа и соединенных тремя гипервариабельными областями, образующими петли, соединяющие структуры  $\beta$ -типа, а в некоторых случаях, являющиеся их частью. Гипервариабельные области каждой цепи объединены друг с другом в непосредственной близости при помощи FR и, вместе с гипервариабельными областями другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, однако проявляют различные эффекторные функции, например, участие антитела в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ).

Термин "гипервариабельная область" при применении в данном документе, относится к аминокислотным остаткам антитела, которые отвечают за связывание антигена. Гипервариабельная область, как правило, содержит аминокислотные остатки из "определяющей комплементарности области" или "CDR" (например, остатки 31-35 (H1), 50-65 (H2) и 95-102 (H3) в вариабельном домене тяжелой цепи; Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) и/или остатки из остатков "гипервариабельной петли" 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3) в вариабельном домене тяжелой цепи; Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). "Каркасная область" или остатки "FR", как определено в данном документе, представляют собой остатки гипервариабельной области, отличные от остатков вариабельного домена.

Примерные обозначения CDR показаны в данном документе, однако специалист в данной области техники поймет, что обычно используется ряд определений CDR, включая определение Kabat (см. "Zhao et al. A germline knowledge based computational approach for determining antibody complementarity determining regions". *Mol Immunol.* 2010; 47:694-700), которое основано на изменчивости последовательности и является наиболее часто используемым. Определение Chothia основано на расположении областей структурных петель (Chothia et al. "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions". *Nature.* 1989; 342:877-883). Представляющие интерес альтернативные определения CDR включают, без ограничения, те, которые раскрыты Honegger, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool." *J Mol Biol.* 2001; 309:657-670; Ofran et al. "Automated identification of complementarity determining regions (CDRs) reveals peculiar characteristics of CDRs and B cell epitopes". *J Immunol.* 2008; 181:6230-6235; Almagro "Identification of differences in the specificity-determining residues of antibodies that recognize antigens of different size: implications for the rational design of antibody repertoires". *J Mol Recognit.* 2004; 17:132-143; и Padlan et al. "Identification of specificity-determining residues in antibodies". *Faseb J.* 1995; 9:133-139, содержание каждого из которых включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Термины "антитело, содержащее только тяжелые цепи", "антитело, состоящее из тяжелых цепей" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся в самом широком смысле к антителам, в которых отсутствует легкая цепь обычного антитела. Термины, в частности, включают, без ограничения, гомодимерные антитела, содержащие антигенсвязывающий домен VH и константные домены CH2 и CH3, в отсутствие домена CH1; функциональные (антигенсвязывающие) варианты таких антител, растворимые варианты VH, Ig-NAR, содержащие гомодимер одного варибельного домена (V-NAR) и пяти С-подобных константных доменов (C-NAR), и их функциональные фрагменты; и растворимые однодоменные антитела (sUniDab™). В одном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена варибельной области, состоящего из каркаса 1, CDR1, каркаса 2, CDR2, каркаса 3, CDR3 и каркаса 4. В другом варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена по меньшей мере части шарнирной области и доменов CH2, и CH3. В другом варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена по меньшей мере части шарнирной области и домена CH2. В дополнительном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелую цепь, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена CH3. Антитела, содержащие только тяжелую цепь, у которых домен CH2 и/или CH3 укорочен, также включены в данный документ. В дополнительном варианте осуществления тяжелая цепь состоит из антигенсвязывающего домена и по меньшей мере одного домена СН (CH1, CH2, CH3 или CH4), но без шарнирной области. В дополнительном варианте осуществления тяжелая цепь состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере одного домена СН (CH1, CH2, CH3 или CH4) и по меньшей мере части шарнирной области. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, может быть в форме димера, в котором две тяжелые цепи связаны дисульфидной связью друг с другом, ковалентно или нековалентно связаны друг с другом. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, может принадлежать к подклассу IgG, но также в данном документе включены антитела, относящиеся к другим подклассам, таким как подкласс IgM, IgA, IgD и IgE. В конкретном варианте осуществления антитело из тяжелых цепей имеет подтип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, в частности подтип IgG1. В одном варианте осуществления антитело из тяжелых цепей относится к подтипу IgG4, где один или более доменов СН модифицированы для изменения эффекторной функции антитела. В одном варианте осуществления антитело из тяжелых цепей относится к подтипу IgG1, где один или более доменов СН модифицированы для изменения эффекторной функции антитела. Модификации доменов СН, которые изменяют эффекторную функцию, дополнительно описаны в данном документе. Неограничивающие примеры антител из тяжелых цепей описаны, например, в WO2018/039180, описание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

В одном варианте осуществления антитела, содержащие только тяжелые цепи, в данном документе используются в качестве связывающего (нацеливающего) домена химерного антигенного рецептора (CAR). Определение, в частности, включает антитела человека, содержащие только тяжелые цепи, называемые UniAb™, продуцируемые трансгенными крысами с иммуноглобулином человека (UniRat™). Варибельные области (VH) UniAb™ называют UniDab™, и являются универсальными строительными блоками, которые могут быть связаны с областями Fc или сывороточным альбумином для разработки новых терапевтических средств с полиспецифичностью, повышенной эффективностью и увеличенным периодом полужизни. Поскольку гомодимерные UniAb™ лишены легкой цепи и, следовательно, домена VL, антиген распознается одним единственным доменом, то есть варибельным доменом (антигенсвязывающим доменом) тяжелой цепи антитела из тяжелых цепей (VH).

Используемый в данном документе термин "интактная цепь антитела" представляет собой цепь, содержащую полноразмерную варибельную область и полноразмерную константную область (Fc). Интактное "стандартное" антитело содержит интактную легкую цепь и интактную тяжелую цепь, а также константный домен легкой цепи (CL) и константные домены тяжелой цепи, CH1, шарнир, CH2 и CH3

для секретируемого IgG. Другие изотипы, такие как IgM или IgA, могут иметь разные домены СН. Константные домены могут представлять собой константные домены нативной последовательности (например, константные домены человеческой нативной последовательности) или их варианты аминокислотной последовательности. Интактное антитело может иметь одну или более "эффекторных функций", которые относятся к той биологической активности, которая присуща константной области Fc (области Fc с нативной последовательностью или области Fc с вариантной аминокислотной последовательностью) антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают связывание C1q; комплементзависимую цитотоксичность; связывание с Fc-рецептором; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; и снижение количества рецепторов клеточной поверхности. Варианты константной области включают те, которые изменяют эффекторный профиль, связывание с Fc-рецепторами и т.п.

В зависимости от аминокислотной последовательности Fc (константного домена) их тяжелых цепей, антитела и различные антигенсвязывающие белки могут быть определены в разные классы. Существует пять основных классов областей Fc тяжелой цепи: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на "подклассы" (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, и IgA2. Константные домены Fc, которые соответствуют различным классам антител, могут обозначаться как  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  и  $\mu$ , соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны. Формы Ig включают шарнирные модификации или бесшарнирные формы (Roux et al (1998) *J. Immunol.* 161:4083-4090; Lund et al (2000) *Eur. J. Biochem.* 267:7246-7256; US 2005/0048572; US 2004/0229310). Легкие цепи антител от любых видов позвоночных можно отнести к одному из двух типов, называемых  $\mu$  и  $\lambda$ , на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов.

"Функциональная область Fc" обладает "эффекторной функцией" области Fc с нативной последовательностью. Неограничивающие примеры эффекторных функций включают связывание C1q; КЗЦ; связывание с Fc-рецептором; АЗКЦ; АЗКФ; снижение количества рецепторов на поверхности клетки (например, В-клеточного рецептора) и т.д. Такие эффекторные функции, как правило, требуют, чтобы область Fc взаимодействовала с рецептором, например, рецепторами Fc $\gamma$ RI; Fc $\gamma$ RIIA; Fc $\gamma$ RIIB1; Fc $\gamma$ RIIB2; Fc $\gamma$ RIIA; Fc $\gamma$ RIIB, и рецептором FcRn с низкой аффинностью; и могут быть оценены с помощью различных анализов, известных в данной области техники. "Мертвый" или "подвергнутый сайленсингу" Fc представляет собой Fc, который был мутирован для сохранения активности в отношении, например, продления периода полужизни в сыворотке, но который не активирует высокоаффинный Fc-рецептор или который имеет сниженную аффинность к Fc-рецептору.

"Область Fc с нативной последовательностью" содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности области Fc, встречающейся в природе. Человеческие области Fc с нативной последовательностью включают, например, область Fc человеческого IgG1 с нативной последовательностью (не-A- и A-аллотипы); область Fc человеческого IgG2 с нативной последовательностью; область Fc человеческого IgG3 с нативной последовательностью; и область Fc человеческого IgG4 с нативной последовательностью, а также их природные варианты.

"Вариант области Fc" содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от последовательности области Fc с нативной последовательностью в силу по меньшей мере одной модификации аминокислоты, предпочтительно одной или более аминокислотных замен. Предпочтительно вариант области Fc имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с областью Fc с нативной последовательностью или с областью Fc исходного полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен, и предпочтительно от около одной до около пяти аминокислотных замен в области Fc с нативной последовательностью или в области Fc исходного полипептида. Вариант области Fc в данном документе предпочтительно будет обладать по меньшей мере около 80% гомологией с областью Fc с нативной последовательностью и/или с областью Fc исходного полипептида, и наиболее предпочтительно по меньшей мере около 90% гомологии с ними, более предпочтительно по меньшей мере около 95% гомологии с ним.

Варианты последовательностей Fc могут содержать три аминокислотные замены в области СН2 для снижения связывания Fc $\gamma$ RI в положениях 234, 235, и 237 согласно индексу EU (см. Duncan et al., (1988) *Nature* 332:563). Две аминокислотные замены в сайте связывания комплемента C1q в положениях 330 и 331 согласно индексу EU снижают фиксацию комплемента (см. Tao et al., *J. Exp. Med.* 178:661 (1993) и Canfield and Morrison, *J. Exp. Med.* 173:1483 (1991)). Замена на остатки человеческого IgG1 или IgG2 в положениях 233-236 и остатки IgG4 в положениях 327, 330 и 331 значительно снижает АЗКЦ и КЗЦ (см., например, Armour KL. et al, 1999 *Eur J Immunol.* 29(8):2613-24; и Shields RL. et al, 2001. *J Biol Chem.* 276(9):6591-604). Аминокислотная последовательность человеческого IgG1 (UniProtKB № P01857) представлена в данном документе как SEQ ID NO: 93. Аминокислотная последовательность человеческого IgG4 (UniProtKB № P01861) представлена в данном документе как SEQ ID NO: 94. Подвергнутый сайленсингу IgG1 описан, например, в Boesch, A.W., et al., "Highly parallel characterization of IgG Fc binding interactions". *MAbs*, 2014. 6(4): p. 915-27, описание которого полностью включено в данный документ

посредством ссылки.

Возможны и другие варианты Fc, включая, без ограничения, вариант, в котором удалена область, способная образовывать дисульфидную связь, или в котором удалены определенные аминокислотные остатки на N-конце нативного Fc, или остаток метионина добавлен к нему. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления одна или более Fc-частей связывающего соединения могут содержать одну или более мутаций в шарнирной области для устранения дисульфидной связи. В еще одном варианте осуществления шарнирная область Fc может быть удалена полностью. В еще одном варианте связывающее соединение может содержать вариант Fc.

Кроме того, вариант Fc может быть сконструирован для удаления или существенного снижения эффекторных функций путем замены (мутации), удаления или добавления аминокислотных остатков для осуществления связывания комплемента или связывания Fc-рецептора. Например, без ограничения, деляция может происходить в сайте связывания комплемента, таком как сайт связывания C1q. Способы получения таких производных последовательностей Fc-фрагмента иммуноглобулина описаны в международных патентных публикациях №№ WO 97/34631 и WO 96/32478. Кроме того, Fc-домен может быть модифицирован фосфорилированием, сульфатированием, ацилированием, гликозилированием, метилированием, фарнезилированием, ацетилированием, амидированием и т.п.

Термин "антитело, содержащее область Fc" относится к антителу, которое содержит область Fc. C-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) области Fc может быть удален, например, во время очистки антитела или путем конструирования рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело. Соответственно, антитело, имеющее область Fc согласно данному изобретению, может включать антитело с или без K447.

Аспекты изобретения включают связывающие соединения, имеющие полиспецифические конфигурации, которые включают, без ограничения, биспецифические, триспецифические и т.д. Большое разнообразие способов и конфигураций белков известно и используется для получения биспецифических моноклональных антител (бсмаАт), триспецифических антител, и т.п.

Были разработаны различные способы получения поливалентных искусственных антител путем рекомбинантного слияния переменных доменов двух или более антител. В некоторых вариантах осуществления первый и второй антигенсвязывающий домен на полипептиде соединены полипептидным линкером. Одним неограничивающим примером такого полипептидного линкера является GS-линкер, имеющий аминокислотную последовательность из четырех остатков глицина, за которыми следует один остаток серина, и в которой последовательность повторяется n раз, где n представляет собой целое число от 1 до около 10 (SEQ ID NO: 107), например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9. Неограничивающие примеры таких линкеров включают GGGGS (SEQ ID NO: 102) (n=1) и GGGSGGGGS (SEQ ID NO: 103) (n=2). Также можно использовать другие подходящие линкеры, которые описаны, например, в Chen et al., Adv Drug Deliv Rev. 2013 October 15; 65 (10): 1357-69, описание которого полностью включено в данный документ посредством ссылки.

Термин "трехцепочечная антителоподобная молекула" или "ТСА" используется в данном документе для обозначения антителоподобных молекул, включающих, состоящих по существу или состоящих из трех полипептидных субъединиц, две из которых содержат, состоят по существу из или состоят из одной тяжелой и одной легкой цепи моноклонального антитела, или функциональных антигенсвязывающих фрагментов таких цепей антитела, содержащих антигенсвязывающую область и по меньшей мере один домен СН. Данная пара тяжелая цепь/легкая цепь обладает специфичностью связывания в отношении первого антигена. Третья полипептидная субъединица включает, состоит по существу из или состоит из антитела, содержащего только тяжелые цепи, содержащего Fc-часть, содержащую домены СН2 и/или СН3, и/или СН4, в отсутствие домена СН1, и один или более антигенсвязывающих доменов (например, два антигенсвязывающих домена), который связывает эпитоп второго антигена или другой эпитоп первого антигена, причем такой связывающий домен получен из или имеет идентичность последовательности с переменной областью тяжелой или легкой цепи антитела. Части такой переменной области могут кодироваться сегментами гена V<sub>H</sub> и/или V<sub>L</sub>, сегментами гена D и J<sub>H</sub>, или сегментами гена J<sub>L</sub>. Переменная область может кодироваться реаранжированными генными сегментами V<sub>H</sub>DJ<sub>H</sub>, V<sub>L</sub>DJ<sub>H</sub>, V<sub>H</sub>J<sub>L</sub> или V<sub>L</sub>J<sub>L</sub>. В белке ТСА используется антитело, содержащее только тяжелые цепи, как определено выше.

В соединении, связывающем ТСА, используется "антитело, содержащее только тяжелые цепи", или "антитело, состоящее из тяжелых цепей", или "полипептид, содержащий только тяжелые цепи", которые, как используется в данном документе, означают одноцепочечное антитело, содержащее константные области тяжелой цепи СН2 и/или СН3, и/или СН4 но без домена СН1. В одном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и доменов СН2, и СН3. В другом варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена СН2. В дополнительном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена СН3. Антитела, содержащие только тяжелые цепи, у которых домен СН2 и/или СН3 укорочен, также включены в данный документ. В другом варианте осуществления тяжелая цепь состоит из антигенсвязыва-

вающего домена и по меньшей мере одного домена СН (СН1, СН2, СН3 или СН4), но без шарнирной области. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, может быть в форме димера, в котором две тяжелые цепи связаны дисульфидной связью, другие в противном случае ковалентно или нековалентно связаны друг с другом, и может необязательно включать асимметричную границу взаимодействия между двумя или более доменами СН, чтобы облегчить правильное спаривание между полипептидными цепями. Антитело из тяжелых цепей может принадлежать к подклассу IgG, но сюда также включены антитела, принадлежащие к другим подклассам, таким как подкласс IgM, IgA, IgD и IgE. В конкретном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, относится к подтипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, в частности подтипу IgG1 или подтипу IgG4. Неограничивающие примеры соединения, связывающего ТСА, описаны, например, в WO2017/223111 и WO2018/052503, описания которых полностью включены в данный документ посредством ссылки.

Антитела, состоящий только из тяжелых цепей, составляют около четверти антител IgG, продуцируемых животными семейства верблюдовых, например верблюдами и ламами (Hamers-Casterman C., et al. *Nature*. 363, 446-448 (1993)). Эти антитела образованы двумя тяжелыми цепями, но лишены легких цепей. Как следствие, переменный участок связывания антигена называется доменом VHH, и он представляет собой наименьший естественный, интактный антигенсвязывающий сайт, имеющий длину всего около 120 аминокислот (Desmyter, A., et al. *J. Biol. Chem.* 276, 26285-26290 (2001)). Антитела, содержащие только тяжелые цепи, с высокой специфичностью и аффинностью могут образовываться против различных антигенов посредством иммунизации (van der Linden, R. H., et al. *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)), а часть VHH может быть легко клонирована и экспрессирована в дрожжах (Frenken, L. G. J., et al. *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Их уровни экспрессии, растворимости и стабильности значительно выше, чем у классических фрагментов F(ab) или Fv (Ghahroudi, M. A. et al. *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)). Также было показано, что у акул есть один VH-подобный домен в своих антителах, называемый VNAR. (Nuttall et al. *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall et al. *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley et al., *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003)).

Используемые в данном документе термины "CD22" и "кластер дифференцировки 22" относятся к молекуле, принадлежащей к семейству лектинов SIGLEC, обнаруженной на поверхности зрелых В-клеток и, в меньшей степени, на некоторых незрелых В-клетках. Термин "CD22" включает белок CD22 человека и любого вида отличного от человека животного и, в частности, включает CD22 человека, а также CD22 отличных от человека млекопитающих.

Используемый в данном документе термин "CD22 человека" включает любые варианты, изоформы и видовые гомологи CD22 человека (UniProt P20273), независимо от его источника или способа получения. Таким образом, "CD22 человека" включает CD22 человека, естественно экспрессируемый клетками, и CD22, экспрессируемый на клетках, трансфицированных геном CD22 человека.

Термины "антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи", "антитело к CD22, состоящее только из тяжелых цепей", "анти-CD22 антитело, содержащее только тяжелые цепи" и "антитело к CD22, состоящее только из тяжелых цепей" используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения антитела, содержащего только тяжелые цепи, как определено выше, для иммуноспецифического связывания с CD22, включая CD22 человека, как определено выше. Определение включает, без ограничения, человеческие антитела, содержащие только тяжелые цепи, продуцируемые трансгенными животными, такими как трансгенные крысы или трансгенные мыши, экспрессирующие иммуноглобулин человека, включая UniRat<sup>TM</sup>, продуцирующие человеческие антитела UniAb<sup>TM</sup> к CD22, как определено выше.

"Процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей" относительно эталонной полипептидной последовательности определяется как процентная доля аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые являются идентичными с аминокислотными остатками в эталонной полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и внесения, в случае необходимости, гэпов для достижения максимальной идентичности последовательностей, но без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может осуществляться различными способами, которые известны специалистам в данной области техники, например, с использованием общедоступных компьютерных программ, таких как программные обеспечения BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Для целей данного документа, тем не менее, значения% идентичности аминокислотной последовательности получены с использованием программы для сравнения последовательностей ALIGN-2.

"Выделенным" антителом является такое, которое было идентифицировано и отделено и/или извлечено из компонента его естественной среды. Загрязняющий компонент естественного окружения представляет собой вещества, которые влияют на диагностическое или терапевтическое применение антитела, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления антитело будет очищено (1) до более 95% по массе антитела, как определено методом Лоури, и наиболее предпочтительно более 99% по массе, (2) до степени, дос-

таточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности путем ДСН-ПААГ-электрофореза в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием красителя Кумасси синего или, предпочтительнее, красителя на основе серебра. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. Обычно, однако, выделенное антитело будет получено с помощью по меньшей мере одного этапа очистки.

Антитела по изобретению включают полиспецифические антитела. Полиспецифические антитела имеют более чем одну специфичность связывания. Термин "полиспецифический", в частности, включает "биспецифический" и "триспецифический", а также аффинность независимого специфического связывания высшего порядка, такую как полиэпитопная специфичность высшего порядка, а также тетравалентные антитела и фрагменты антител. Термины "полиспецифическое антитело", "полиспецифическое антитело, содержащее только тяжелые цепи", "полиспецифическое антитело, состоящее из тяжелых цепей", "полиспецифическое UniAb™" и "полиспецифическое связывающее соединение" используются в данном документе в самом широком смысле и охватывают все антитела с более чем одной специфичностью связывания. Полиспецифические антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению, в частности, включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с одним единственным эпитопом на белке CD22, таким как человеческий CD22, и с эпитопом на другом белке, таком как, например, белок CD3 (т.е. двухвалентные и монопаратопные). Полиспецифические антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению, в частности, включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с двумя или более неперекрывающимися эпитопами на белке CD22, таким как человеческий CD22 (т.е. двухвалентные и бипаратопные). Полиспецифические антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению также конкретно включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с эпитопом белка CD22, таким как человеческий CD22, и эпитопом другого белка, такого как, например, белок CD3, такой как человеческий CD3 (т.е. двухвалентные и бипаратопные). Полиспецифические антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению также конкретно включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с двумя или более неперекрывающимися или частично перекрывающимися эпитопами на белке CD22, таким как белок CD22 человека, и с эпитопом на другом белке, такой как, например, белок CD3, такой как белок CD3 человека (т.е. трехвалентный и бипаратопный).

Антитела согласно изобретению включают моноспецифические антитела, имеющие одну специфичность связывания. Моноспецифические антитела, в частности, включают антитела, обладающие одной специфичностью связывания, а также антитела, содержащие более одной единицы связывания, имеющие одинаковую специфичность связывания. Термины "моноспецифическое антитело", "моноспецифическое антитело, содержащее только тяжелые цепи", "моноспецифическое антитело, состоящее из тяжелых цепей" и "моноспецифическое UniAb™" используются в данном документе в самом широком смысле и охватывают все антитела с одной специфичностью связывания. Моноспецифические антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению, в частности, включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с одним эпитопом белка CD22, таким как человеческий CD22 (моновалентные и моноспецифические). Моноспецифические антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению также конкретно включают антитела, имеющие более одной связывающей единицы (например, поливалентные антитела), иммуноспецифически связывающиеся с эпитопом на белке CD22, таким как человеческий CD22. Например, моноспецифическое антитело в соответствии с вариантами осуществления изобретения может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую два антигенсвязывающих домена, в котором каждый антигенсвязывающий домен связывается с одним и тем же эпитопом на белке CD22 (т.е. двухвалентное и моноспецифическое).

"Эпитоп" представляет собой участок на поверхности молекулы антигена, с которым связывается одна молекула антитела. Обычно антиген имеет несколько или много разных эпитопов и вступает в реакцию со многими различными антителами. Термин, в частности, включает линейные эпитопы и конформационные эпитопы.

"Эпитопное картирование" представляет собой процесс идентификации сайтов связывания или эпитопов антител на их целевых антигенах. Эпитопы антител могут быть линейными или конформационными эпитопами. Линейные эпитопы образованы непрерывной последовательностью аминокислот в белке. Конформационные эпитопы образуются из аминокислот, которые являются прерывистыми в последовательности белка, но которые объединяются при сворачивании белка в его трехмерную структуру.

Термин "полиэпитопная специфичность" относится к способности специфически связываться с двумя или более различными эпитопами на одной или разных мишенях. Как отмечалось выше, настоящее изобретение, в частности, включает антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, с полиэпитопной специфичностью, т.е. антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, связывающиеся с одним или более неперекрывающимися эпитопами на белке CD22, таким как CD22 человека; и антитела к CD22, связывающиеся с одним или более эпитопами на белке CD22, и с эпитопом на другом белке, таком

как, например, белок CD3. Термин "неперекрывающийся эпитоп(ы)" или "неконкурентный эпитоп(ы)" антигена определяется в данном документе как означающий эпитоп(ы), которые распознаются одним членом пары антигенспецифических антител, но не другим членом. Пары антител или антигенсвязывающие области, нацеленные на один и тот же антиген на полиспецифическом антителе, распознающие неперекрывающиеся эпитопы, не конкурируют за связывание с этим антигеном и способны одновременно связывать этот антиген.

Антитело связывает "по существу тот же эпитоп", что и эталонное антитело, когда два антитела распознают идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы. Наиболее широко используемыми и быстрыми способами для определения того, связываются ли два эпитопа с идентичными или стерически перекрывающимися эпитопами, являются анализы конкурентного связывания, которые могут быть сконфигурированы во всем количестве различных форматов с использованием либо меченого антигена, либо меченого антитела. Как правило, антиген иммобилизуют в 96-луночной планшете, и способность немеченых антител блокировать связывание меченых антител измеряют с использованием радиоактивных или ферментных меток.

Термин "валентный", в контексте данного документа, относится к указанному количеству сайтов связывания в молекуле антитела.

"Моновалентное" антитело имеет один сайт связывания. Таким образом, моновалентное антитело также является моноспецифическим.

"Поливалентное" антитело имеет два или более сайтов связывания. Таким образом, термины "двухвалентный", "трехвалентный" и "четырёхвалентный" относятся к наличию двух сайтов связывания, трех сайтов связывания и четырех сайтов связывания, соответственно. Таким образом, биспецифическое антитело по изобретению является по меньшей мере двухвалентным и может быть трехвалентным, четырехвалентным или иным образом мновалентным. Двухвалентное антитело в соответствии с вариантами осуществления изобретения может иметь два сайта связывания с одним и тем же эпитопом (т.е. двухвалентное, монопаратопное) или с двумя разными эпитопами (т.е. двухвалентное, бипаратопное).

Известно большое разнообразие способов и конфигураций белка и используется для получения биспецифических моноклональных антител (бсмаАт), триспецифических антител и тому подобного.

Термин "химерный антигенный рецептор" или "CAR" используется в данном описании в самом широком смысле для обозначения сконструированного рецептора, который прививает желаемую специфичность связывания (например, антигенсвязывающую область моноклонального антитела или другого лиганда) к охватывающему мембрану и внутриклеточному сигнальному доменам. Как правило, рецептор используется для прививки специфичности моноклонального антитела Т-клетке для создания химерного антигенного рецептора (CAR). (J Natl Cancer Inst, 2015; 108(7):dvj439; и Jackson et al., Nature Reviews Clinical Oncology, 2016; 13:370-383).

Термин "человеческое антитело" используется в данном документе для включения антител, имеющих переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Человеческие антитела по данному документу могут включать аминокислотные остатки, которые не кодируются последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека, например, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или с помощью соматической мутации *in vivo*. Термин "человеческое антитело", в частности, включает антитела, содержащие только тяжелые цепи, имеющие последовательности переменной области тяжелой цепи человека, продуцируемые трансгенными животными, такими как трансгенные крысы или мыши, в частности UniAb™, продуцируемые UniRat™, как определено выше.

Под "химерным антителом" или "химерным иммуноглобулином" подразумевается молекула иммуноглобулина, содержащая аминокислотные последовательности по меньшей мере из двух разных локусов Ig, например, трансгенное антитело, содержащее часть, кодируемую локусом Ig человека, и часть, кодируемую локусом Ig крысы. Химерные антитела включают трансгенные антитела с нечеловеческими областями Fc или искусственными областями Fc, и человеческие идиотипы. Такие иммуноглобулины могут быть выделены из животных согласно изобретению, которые были сконструированы для получения таких химерных антител.

Используемый в данном документе термин "эффекторная клетка" относится к иммунной клетке, которая участвует в эффекторной фазе иммунного ответа, в отличие от когнитивной и активационной фаз иммунного ответа. Некоторые эффекторные клетки экспрессируют специфические Fc-рецепторы и выполняют специфические иммунные функции. В некоторых вариантах осуществления эффекторная клетка, такая как естественная клетка-киллер, способна индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ). Например, моноциты и макрофаги, которые экспрессируют FcR, участвуют в специфическом уничтожении клеток-мишеней и презентации антигенов другим компонентам иммунной системы или связывании с клетками, которые презентуют антигены. В некоторых вариантах осуществления эффекторная клетка может фагоцитировать антиген-мишень или клетку-мишень.

"Эффекторные клетки человека" представляют собой лейкоциты, которые экспрессируют рецепторы, такие как Т-клеточные рецепторы или FcR, и выполняют эффекторные функции. Предпочтительно,

такие клетки экспрессируют по меньшей мере FcγRIII и осуществляют эффекторную функцию АЗКЦ. Примеры лейкоцитов человека, которые опосредуют АЗКЦ, включают, естественные клетки-киллеры (NK), моноциты, цитотоксические Т-клетки и нейтрофилы; причем NK-клетки являются предпочтительными. Эффекторные клетки могут быть выделены из нативного источника, например, из крови или МПКК, как описано в данном документе.

Термин "иммунная клетка" используется в данном документе в самом широком смысле, включая, без ограничения, клетки миелоидного или лимфоидного происхождения, например лимфоциты (такие как В-клетки и Т-клетки, включая цитолитические Т-клетки (ЦТЛ)), клетки-киллеры, естественные клетки-киллеры (NK), макрофаги, моноциты, эозинофилы, полиморфно-ядерные клетки, такие как нейтрофилы, гранулоциты, тучные клетки и базофилы.

"Эффекторные функции" антитела относятся к той биологической активности, которая относится к области Fc (области Fc с нативной последовательностью или области Fc с вариантной аминокислотной последовательностью) антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают связывание C1q; комплемент-зависимую цитотоксичность (КЗЦ); связывание с рецептором Fc; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; снижение экспрессии рецепторов поверхности клетки, (например, В-клеточный рецептор, BCR) и т.д.

"Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность" и "АЗКЦ" соответствуют опосредованной клетками реакции, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют рецепторы Fc (FcR) (например, естественные клетки-киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги), распознают связанное антитело на целевой клетке и, таким образом, приводят к лизису клетки-мишени. Первичные клетки, опосредующие АЗКЦ, естественные клетки-киллеры, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Экспрессия FcR на гемопоэтических клетках приведена в табл. 3 на странице 464 в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Для оценки активности АЗКЦ представляющей интерес молекулы может быть проведен анализ АЗКЦ *in vitro*, описанный в патенте США № 5500362 или 5821337. Эффекторные клетки, пригодные для такого анализа, включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКГЖ) и естественные клетки-киллеры (NK). В качестве альтернативы или дополнения, активность АЗКЦ представляющей интерес молекулы можно оценить *in vivo*, например, в животной модели, например, согласно описанию в публикации Clynes et al. *PNAS (USA)* 95:652-656 (1998).

"Комплементзависимая цитотоксичность" или "КЗЦ" относится к способности молекулы лизировать мишень в присутствии комплемента. Путь активации комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с молекулой (например, антителом), образующей комплекс с распознаваемым антигеном. Для оценки активации комплемента, может быть выполнен анализ КЗЦ, например, как описано в Gazzano-Santoro et al, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996).

"Аффинность связывания" относится к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антителом) и ее связывающим партнером (например, антигеном). Если не указано иное, как используется в данном документе, "аффинность связывания" относится к аффинности собственного связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары связывания (например, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y в целом можно выразить константой диссоциации (Kd). Аффинность может быть измерена общепринятыми способами, известными в данной области техники. Низкоаффинные антитела, как правило, связывают антиген медленно и склонны легко диссоциировать, тогда как высокоаффинные антитела, как правило, связывают антиген быстрее и имеют тенденцию оставаться связанными.

Используемый в данном документе термин "Kd" или "значение Kd" относится к константе диссоциации, определенной методом биослойной интерферометрии с использованием прибора Octet QK384 (Fortebio Inc., Menlo Park, CA) в кинетическом режиме. Например, сенсоры к мышинному Fc загружают с антигеном, слитым с Fc мыши, и затем погружают в лунки, содержащие антитела, для измерения зависимых от концентрации скоростей (kon). Скорости диссоциации антител (koff) измеряют на последней стадии, когда сенсоры погружают в лунки, содержащие только буфер. Kd представляет собой соотношение koff/kon. (Подробнее см. Concerpcion, J, et al., *Comb Chem High Throughput Screen*, 12(8), 791-800, 2009).

Термины "лечение", "лечить" и тому подобное используются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть профилактическим с точки зрения полного или частичного предотвращения заболевания или его симптомов и/или может быть терапевтическим с точки зрения частичного или полного излечения заболевания и/или неблагоприятного явления, связанного с этим заболеванием. Используемый в данном документе термин "лечение" охватывает любое лечение заболевания у млекопитающего и включает: (a) предотвращение появления заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого это заболевание еще не диагностировано; (b) подавление заболевания, то есть прекращение его развития; или (c) облегчение заболевания, т.е. вызывание регресса заболевания. Терапевтический агент может быть введен до, во время или после начала заболевания или травмы. Лечение продолжающегося заболевания,

при котором лечение стабилизирует или уменьшает нежелательные клинические симптомы пациента, представляет особый интерес. Такое лечение желательно проводить до полной потери функции в пораженных тканях. Терапия у субъекта может быть проведена во время симптоматической стадии заболевания, и в некоторых случаях после симптоматической стадии заболевания.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество активного агента, которое необходимо для придания терапевтического эффекта у субъекта. Например, "терапевтически эффективное количество" представляет собой количество, которое вызывает, ослабляет или иным образом вызывает улучшение патологических симптомов, прогрессирования заболевания или физиологических состояний, связанных с заболеванием, или которое повышает устойчивость к нарушению.

Термины "В-клеточные новообразования" или "зрелые В-клеточные новообразования" в контексте данного изобретения включают мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, В-клеточную пролимфоцитарную лимфому, В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз, лимфому из мантийных клеток, лимфому Беркитта, фолликулярную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ), множественную миелому, лимфоплазматическую лимфому, лимфому маргинальной зоны селезенки, плазмоклеточное новообразование, например, плазмоклеточную миелому, плазмоцитому, болезнь отложения моноклональных иммуноглобулинов, болезнь тяжелых цепей, MALT-лимфому, узловую В-клеточную лимфому из клеток краевой зоны, внутрисосудистую крупноклеточную В-клеточную лимфому, первичную выпотную лимфому, лимфоматоидный гранулематоз, неходжкинскую лимфому, лимфому Ходжкина, волосатоклеточный лейкоз, первичную выпотную лимфому и СПИД-связанную неходжкинскую лимфому.

Термин "характеризуется экспрессией CD22" в широком смысле относится к любому заболеванию или нарушению, при котором экспрессия CD22 связана или вовлечена в один или более патологических процессов, которые характерны для данного заболевания или нарушения. Такие нарушения включают, но не ограничиваются ими, В-клеточные новообразования.

Термины "субъект", "индивидуум" и "пациент" используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения млекопитающего, которого оценивают на предмет лечения и/или которое подвергается лечению. В одном варианте осуществления млекопитающее является человеком. Термины "субъект", "индивидуум" и "пациент" охватывают, без ограничения, индивидуумов, имеющих злокачественное новообразование, индивидуумов с аутоиммунными заболеваниями, патогенными инфекциями и тому подобное. Субъектами могут быть люди, но также могут быть и другие млекопитающие, в частности те млекопитающие, которые могут быть использованы в качестве лабораторных моделей заболеваний человека, например, мышь, крыса и т.д.

Термин "фармацевтический состав" относится к составу, который находится в такой форме, чтобы обеспечить биологическую активность активного ингредиента, чтобы быть эффективным, и который не содержит каких-либо дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет вводиться состав. Такие составы являются стерильными. "Фармацевтически приемлемые эксципиенты" (носители, адьюванты) являются таковыми, которые резонно могут вводиться субъекту-млекопитающему и обеспечивать эффективную дозу используемого активного ингредиента.

"Стерильная" композиция является асептической или свободной от, или практически не содержит любых живых микроорганизмов и их спор. "Замороженная" композиция является композицией при температуре ниже 0°C.

"Стабильная композиция" является таковой, в которой белок практически полностью сохраняет свою физическую стабильность и/или химическую стабильность и/или биологическую активность во время хранения. Предпочтительно, композиция практически полностью сохраняет свою физическую или химическую стабильность, а также свою биологическую активность. Период хранения в общем выбран на основании срока годности состава. Разнообразные техники для измерения стабильности белка известны в данной области техники и рассмотрены, например, в *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301. Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) и Jones. A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993). Стабильность может быть измерена при выбранной температуре для выбранного периода времени. Стабильность может быть оценена качественно и/или количественно различными способами, включая оценку образования агрегатов (например, с использованием эксклюзионной хроматографии, путем измерения мутности и/или путем визуального контроля); путем оценки неоднородности заряда с помощью катионообменной хроматографии, изоэлектрического фокусирования изображения (iIEF) или электрофореза в капиллярной зоне; анализ аминоконцевой или карбокси-концевой последовательности; масс-спектрометрический анализ; анализ методом электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия для сравнения восстановленного и интактного антитела; анализ пептидной карты (например, триптический или LYS-C); оценку биологической активности или антигенсвязывающей функции антитела; и т.п. Нестабильность может включать в себя одно или более из: агрегации, дезамидирования (например, дезамидирование Asn), окисления (например, окисления Met), изомеризации (например, изомеризации Asp), отщепения / гидролиза / фрагментации (например, фрагментация шарнирной области), образования сукцинимидов, неспаренного цистеина(ов), удлинения N-конца, обработки C-конца, различных гликозилирования, и т.п.

## II. Подробное описание.

Антитела к CD22.

Аспекты изобретения включают полиспецифические связывающие соединения, которые содержат связывающий домен анти-CD22. В данном документе представлено семейство близкородственных связывающих доменов антител, содержащих только тяжелые цепи, которые связываются с CD22 человека. Антитела этого семейства содержат набор последовательностей CDR, как определено в данном документе и показано в табл. 1, и проиллюстрированы предложенными последовательностями переменной области тяжелой цепи (VH) SEQ ID NO: 24-84, приведенными в табл. 2. Антитела, предложенные в данном документе, обеспечивают ряд преимуществ, которые благоприятствуют применению их в качестве терапевтического(их) агента(ов) для клинических целей. Антитела включают членов с диапазоном аффинностей связывания, позволяющих выбирать конкретную последовательность с желаемой аффинностью связывания.

Таблица 1

Уникальные аминокислотные последовательности CDR антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи

SEQ aa CDR1	SEQ aa CDR2	SEQ aaCDR3
GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
GGSISSSY (SEQ ID NO: 4)	IYYTGST (SEQ ID NO: 14)	AREDSSSWRS (SEQ ID NO: 21)
GGSFSGYY (SEQ ID NO: 5)	VYYTGAT (SEQ ID NO: 15)	KRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 22)
GDSISSSY (SEQ ID NO: 6)	IHYSGST (SEQ ID NO: 16)	ARDDSSNWRS (SEQ ID NO: 23)
GGSISSSY (SEQ ID NO: 7)	IYYSGSA (SEQ ID NO: 17)	
GGSISSSHY (SEQ ID NO: 8)		
GGSISSSY (SEQ ID NO: 9)		
GGSINDNSHY (SEQ ID NO: 10)		

Таблица 2

Аминокислотные последовательности переменной области антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи

ID клона	SEQ aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335207	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKSRTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLTVTVSS	24
335161	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLENRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	25
335254	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSWRSRGQGLTVTVSS	26
335260	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSWRSRGQGLTVTVSS	27
335151	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	28
335170	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	29

335176	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	30
335181	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGGYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	31
335244	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	32
335154	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	33
335201	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLTVTVSS	34
335261	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLENRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	35
335293	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	36
335203	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLTVTVSS	37
335185	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLTVTVSS	38
335206	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLTVTVSS	39
335245	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	40
335218	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGLTVTVSS	41
335160	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	42
335158	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	43
324508	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLENRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGLTVTVSS	44
335307	QLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	45

335301	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGNIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	46
335323	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGGYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	47
335271	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRHPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	48
335234	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGNIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	49
335182	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGNIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	50
335186	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	51
335233	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	52
335224	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYTGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	53
335210	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	54
335311	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVYGGFSFGYYWGWIRQPPG KGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSSV TAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	55
335159	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAAYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	56
335188	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	57
335274	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSRNQFSLNLSSV TAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	58
335226	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	59
335333	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARESSSWRSRGQGLTVTVSS	60
335283	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDISISSSSYYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	61

335297	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	62
335273	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	63
335187	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	64
335295	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	65
335220	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	66
335173	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	67
335219	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGVYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	68
335236	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	69
335266	QLQLQESGPGLVRPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	70
335208	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	71
335195	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAMYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	72
335285	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGVYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	73
335150	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQSP EKGLEWIGHIYYSGVYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCKRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	74
335316	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	75
335189	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSVYYTGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	76
335179	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWFRHPP GKGLDWIGSIHYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	77
335230	QLQLQESDPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSHYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	78
335166	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	79
335242	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	80
335162	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIISSSYWGWIRQPPG KGLEWIGSIYYSGSAYYHPSLKSRTISIDTSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARDSSNWSRGQGLTVTVSS	81
335171	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTRDDSSNWSRGQGLTVTVSS	82
335232	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQSSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSNWSRGQGLTVTVSS	83
335263	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSINDNSHYWGWIRQPP GKGLEWIGHIYYSYGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQFSLNLSS VTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGLTVTVSS	84

Подходящее антитело может быть выбрано из представленных в данном документе, для разработки и терапевтического или другого применения, включая, без ограничения, использование в качестве бис-

пецифического, например, как показано на фиг. 14А, или триспецифического антитела или части структуры CAR-T (например, как показано на фиг. 14В). На фиг. 14А представлена иллюстрация неограничивающего примера полиспецифического антитела к CD3 x CD22, причем домен к CD22 является моновалентным и моноспецифическим. В некоторых вариантах осуществления домен к CD3 содержит домен СН1 и спарен с легкой цепью, в то время как домен(ы) к CD22 получен из антител, содержащих только тяжелые цепи, и не содержит домен СН1 и не взаимодействует с легкой цепью. В некоторых вариантах осуществления две тяжелые цепи разделяют с использованием, например, технологии "выступы-вопадины".

Ссылаясь на антитела, изображенные на фиг. 15, на фиг. 15А показано биспецифическое антитело к CD3 x CD22, в котором связывающее плечо к CD22 является моновалентным и моноспецифическим, а антигенсвязывающий домен плеча к CD22 находится в единой конфигурации, что означает, что присутствует только один антигенсвязывающий домен. На фиг. 15В показана биспецифическое антитело к CD3 x CD22, в котором связывающее плечо к CD22 является двухвалентным и моноспецифическим, а антигенсвязывающий домен плеча к CD22 находится в тандемной конфигурации, что означает, что есть два идентичных антигенсвязывающих домена, размещенных в тандеме. На фиг. 15С показано биспецифическое антитело к CD3 x CD22, в котором связывающее плечо к CD22 является двухвалентным и бипаратопным, а антигенсвязывающие домены плеча к CD22 находятся в тандемной конфигурации.

Определение аффинности к белку-кандидату может быть выполнено с использованием способов, известных в данной области техники, таких как измерения Вiasore. Члены семейства антител могут иметь аффинность к CD22 с Kd от около  $10^{-6}$  до около  $10^{-11}$ , включая, без ограничения: от около  $10^{-6}$  до около  $10^{-10}$ ; от около  $10^{-6}$  до около  $10^{-9}$ ; от около  $10^{-6}$  до около  $10^{-8}$ ; от около  $10^{-8}$  до около  $10^{-11}$ ; от около  $10^{-8}$  до около  $10^{-10}$ ; от около  $10^{-8}$  до около  $10^{-9}$ ; от около  $10^{-9}$  до около  $10^{-11}$ ; от около  $10^{-9}$  до около  $10^{-10}$ ; или любое значение в этих диапазонах. Выбор аффинности может быть подтвержден биологической оценкой для модуляции, например, блокирование, биологическая активность CD22, включая анализы *in vitro*, доклинические модели и клинические испытания, а также оценку потенциальной токсичности.

Члены семьи антител, описанные в данном документе, не являются перекрестно-реактивными с CD22 белком яванского макака, но могут быть сконструированными для обеспечения перекрестной-реактивности с белком CD22 яванского макака или белками CD22 других видов животных, при необходимости.

Семейство CD22-специфических антител в данном документе включает домен VH, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в каркасе VH человека. Последовательности CDR могут быть расположены, например, в области около аминокислотных остатков 26-35; 53-59; и 98-117 для CDR1, CDR2 и CDR3, соответственно, предоставленных иллюстративных последовательностей вариативной области, указанных в SEQ ID NO: 24-84. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что последовательности CDR могут находиться в других положениях, если выбрана другая каркасная последовательность, хотя, как правило, порядок последовательностей остается неизменным.

Последовательности CDR1, CDR2, и CDR3 антител к CD22 по данному изобретению могут охватываться следующими структурными формулами, где X обозначает вариативную аминокислоту, которая может представлять собой вариативную аминокислоту, как указано ниже.

#### CDR1

G X<sub>1</sub> S I X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> Y (SEQ ID NO: 104)

где X<sub>1</sub> представляет собой D или G;

X<sub>2</sub> представляет собой S, T, I или N;

X<sub>3</sub> представляет собой S или D;

X<sub>4</sub> представляет собой G, S или N;

X<sub>5</sub> представляет собой D, G или S; и

X<sub>6</sub> представляет собой Y или H.

#### CDR2

X<sub>7</sub> X<sub>8</sub> Y X<sub>9</sub> G X<sub>10</sub> X<sub>11</sub> (SEQ ID NO: 105)

где X<sub>7</sub> представляет собой I или V;

X<sub>8</sub> представляет собой Y или H;

X<sub>9</sub> представляет собой S или T;

X<sub>10</sub> представляет собой A, V или S; и

X<sub>11</sub> представляет собой T или A.

#### CDR3

X<sub>12</sub> R X<sub>13</sub> D S S X<sub>14</sub> W R S (SEQ ID NO: 106)

где X<sub>12</sub> представляет собой T, A или K;

X<sub>13</sub> представляет собой D или E; и

X<sub>14</sub> представляет собой N или S.

Типичные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 показаны в табл. 1 и 3.

Таблица 3  
Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 антитела  
к CD22, содержащего только тяжелые цепи

<b>ID клона</b>	<b>SEQ_aa_CDR1</b>	<b>SEQ_aa_CDR2</b>	<b>SEQ_aaCDR3</b>
335207	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335161	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335254	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335260	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335151	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335170	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335176	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335181	GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335244	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335154	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)

335201	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335261	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335293	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335203	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335185	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335206	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335245	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335218	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335160	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335158	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
324508	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335307	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335301	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335323	GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335271	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335234	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335182	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335186	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335233	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335224	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYTGST (SEQ ID NO: 14)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335210	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335311	GGSFSGYY (SEQ ID NO: 5)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335159	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335188	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)

335274	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335226	GDSISSSSYY (SEQ ID NO: 6)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335333	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	ARESSSWRS (SEQ ID NO: 21)
335283	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335297	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335273	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335187	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335295	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335220	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335173	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 7)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335219	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335236	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335266	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335208	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335195	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335285	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335150	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	KRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 22)
335316	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335189	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	VYYTGAT (SEQ ID NO: 15)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335179	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IHYSGST (SEQ ID NO: 16)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335230	GGSISSSHY (SEQ ID NO: 8)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335166	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335242	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335162	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 9)	IYYSGSA (SEQ ID NO: 17)	ARDDSSNWRS (SEQ ID NO: 23)
335171	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335232	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335263	GGSISSSHY (SEQ ID NO: 10)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи, согласно данному изобретению содержит последовательность CDR1 любой из SEQ ID NO: 1-10. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR1 представляет собой SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи, согласно данному изобретению содержит последовательность CDR2 любой из SEQ ID NO: 11-17. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 представляет собой SEQ ID NO: 11.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи, согласно данному изобретению содержит последовательность CDR3 любой из SEQ ID NO: 18-23. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 представляет собой SEQ ID NO: 18.

В дополнительном варианте осуществления антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи, согласно данному изобретению содержит последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 1; последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 11; и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 18.

В дополнительных вариантах осуществления антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи, согласно данному изобретению содержит любую из аминокислотных последовательностей вариальной

области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24-84 (табл. 2).

В еще одном варианте осуществления антитело к CD22, содержащее только тяжелые цепи, согласно данному изобретению содержит варируемую область тяжелой цепи SEQ ID NO: 24.

В некоторых вариантах осуществления последовательность CDR в антителе к CD22, содержащем только тяжелые цепи, согласно данному изобретению, содержит одну или две аминокислотные замены относительно последовательности CDR1, CDR2 и/или CDR3 или набора последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 в любой из SEQ ID NO: 1-23 (фиг. 1). В некоторых вариантах осуществления указанные аминокислотные замены(а) представляют собой одно или два аминокислотных положения 4-6 CDR1 и/или одно или два аминокислотных положения 2, 4-7 CDR2 и/или одно или два аминокислотных положения 5 и 12 CDR3 относительно формул, приведенных выше. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, могут содержать последовательность варируемой области тяжелой цепи с по меньшей мере около 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности, по меньшей мере 98% идентичности, или по меньшей мере 99% идентичности с любой одной из последовательностей варируемой области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24-84 (приведенные в табл. 2).

В некоторых вариантах осуществления представлены биспецифические или полиспецифические антитела, которые могут иметь любую из конфигураций, обсуждаемых в данном документе, включая, без ограничения, биспецифическую трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое антитело может содержать по меньшей мере одну варируемую область тяжелой цепи, обладающую специфичностью связывания в отношении CD22. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое антитело может содержать варируемую область тяжелой цепи, содержащую по меньшей мере два антигенсвязывающих домена, где каждый из антигенсвязывающих доменов имеет специфичность связывания в отношении CD22. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое антитело может содержать пару тяжелая цепь / легкая цепь, которая имеет специфичность связывания в отношении первого антигена (например, CD3), и тяжелую цепь из антитела, содержащего только тяжелые цепи. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела, содержащего только тяжелые цепи, содержит Fc-часть, содержащую домены CH2 и/или CH3 и/или CH4, в отсутствие домена CH1. В одном конкретном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит пару тяжелая цепь / легкая цепь, которая имеет специфичность связывания в отношении антигена на эффекторной клетке (например, белок CD3 на T-клетке), и тяжелую цепь из антитела, содержащего только тяжелые цепи, содержащего антигенсвязывающий домен, имеющий специфичность связывания в отношении CD22.

В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое антитело содержит CD3-связывающий домен VH, который спарен с варируемым доменом легкой цепи. В определенных вариантах осуществления легкая цепь представляет собой фиксированную легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен VH содержит последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 87 в каркасе VH человека. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность CDR1 с SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 с SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 с SEQ ID NO: 90 в каркасе VL человека. Вместе CD3-связывающий домен VH и варируемый домен легкой цепи имеет аффинность связывания в отношении CD3. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен VH содержит последовательность варируемой области тяжелой цепи с SEQ ID NO: 91. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен VH содержит последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 99% идентичности с последовательностью варируемой области тяжелой цепи с SEQ ID NO: 91. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность варируемой области легкой цепи с SEQ ID NO: 92. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 99% идентичности с последовательностью варируемой области тяжелой цепи с SEQ ID NO: 92.

Полиспецифические антитела, содержащие описанный выше CD3-связывающий домен VH и варируемый домен легкой цепи, обладают полезными свойствами, например, как описано в опубликованной публикации заявки PCT № WO2018/052503, описание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки. Любые из описанных в данном документе полиспецифических антител и антигенсвязывающих доменов, имеющих аффинность связывания в отношении CD22, могут быть объединены с CD3-связывающими доменами и фиксированными доменами легкой цепи, описанными в данном документе, для создания полиспецифических антител, имеющих аффинность связывания в отношении одного или более эпитопов CD22, а также в отношении CD3.

Таблица 4

Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 тяжелых и легких цепей к CD3

	SEQ aa CDR1	SEQ aa CDR2	SEQ aa CDR3
Тяжелая цепь	GFTFHNYA (SEQ ID NO: 85)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 86)	AKDSRGGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 87)
Легкая цепь	QSVSSN (SEQ ID NO: 88)	GAS (SEQ ID NO: 89)	QQYNNWPWT (SEQ ID NO: 90)

Таблица 5

Аминокислотные последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепи к CD3

VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGLTVTVSSDYRLGGAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 91)
VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 92)

Таблица 6

Последовательности областей Fc человеческих IgG1 и IgG4

IgG1 человека (UniProt № P01857)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 93)
IgG4 человека (UniProt № P01861)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 94)
Человеческий IgG1 с молчащей мутацией (область Fc)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 95)
Человеческий IgG4 с молчащей мутацией (область Fc)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 96)

Таблица 7

## Дополнительные последовательности

Последовательность константной области легкой цепи к CD3 (легкая каппа-цепь)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYCQQYNNWPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDDSTYSLSSLTTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 97)
Последовательность тяжелой цепи к CD3 (с Fc IgG1 дикого типа)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 98)
Последовательность константной области тяжелой цепи к CD3 (с подвергнутым сайленсингу Fc IgG1)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 99)
Последовательность константной области тяжелой цепи к CD3 (с Fc IgG4 ДТ)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP E V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (SEQ ID NO: 100)
Последовательность константной области тяжелой цепи к CD3 (с подвергнутым сайленсингу Fc IgG4)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP E V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (SEQ ID NO: 101)

В некоторых вариантах осуществления представлены биспецифические или полиспецифические антитела, которые могут иметь любую из конфигураций, обсуждаемых в данном документе, включая, без ограничения, биспецифическую трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело может содержать по меньшей мере одну переменную область тяжелой цепи, имеющую специфичность связывания в отношении CD22 и по меньшей мере одну переменную область тяжелой цепи, имеющую специфичность связывания в отношении белка, отличного от CD22. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело может содержать пару тяжелая цепь/легкая цепь, которая обладает специфичностью связывания в отношении первого антигена, и тяжелую цепь из антитела, содержащего только тяжелые цепи, содержащего Fc-часть, содержащую CH2 и/или CH3 и/или домены CH4, в отсутствие домена CH1, и антигенсвязывающего домена, который связывает эпитоп второго антигена или другой эпитоп первого антигена. В одном конкретном варианте осуществления биспецифическое антитело содержит пару тяжелая цепь / легкая цепь, которая имеет специфичность связывания в отношении антигена на эффекторной клетке (например, белок CD3 на T-

клетке), и тяжелую цепь из антитела, содержащего только тяжелые цепи, содержащего антигенсвязывающий домен, имеющий специфичность связывания в отношении CD22.

В некоторых вариантах осуществления, когда связывающее соединение по изобретению представляет собой биспецифическое антитело, одно плечо антитела (один связывающий фрагмент или одна связывающая единица) является специфичным в отношении CD22 человека, в то время как другое плечо может быть специфичным в отношении клеток-мишеней, ассоциированных с опухолью антигенов, нацеливающих антигенов, например, интегринов и т.д., антигенов патогенов, белков контрольных точек и т.п. Клетки-мишени конкретно включают раковые клетки, включая, без ограничения, клетки из гематологических опухолей, например, В-клеточных опухолей, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления одно плечо антитела (один связывающий фрагмент или одна связывающая единица) является специфичным в отношении CD22 человека, тогда как другое плечо является специфичным в отношении CD3.

В некоторых вариантах осуществления связывающее соединение содержит полипептид легкой цепи к CD3, содержащий последовательность SEQ ID NO: 92, связанную с последовательностью SEQ ID NO: 97, полипептид тяжелой цепи к CD3, содержащий последовательность любой из SEQ ID NO: 98, 99, 100 или 101, и полипептид тяжелой цепи к CD22, содержащий последовательность любой из SEQ ID NO: 24-84, связанную с последовательностью любой из SEQ ID NO: 93, 94, 95 или 96. Эти последовательности можно комбинировать различными способами для получения биспецифического антитела желаемого подкласса IgG, например, IgG1, IgG4, подвергнутого сайленсингу IgG1, подвергнутого сайленсингу IgG4.

Различные форматы биспецифических антител находятся в пределах объема изобретения, включая без ограничения одноцепочечные полипептиды, двухцепочечные полипептиды, трехцепочечные полипептиды, четырехцепочечные полипептиды и кратные им полипептиды. Полиспецифические антитела в данном документе, в частности, включают полиспецифические (например, биспецифические) антитела к Т-клеткам, связывающиеся с CD22 (антитела к CD22 x CD3), которые селективно экспрессируются на зрелых В-клетках, и CD3. Такие антитела вызывают сильное опосредованное Т-клетками уничтожение клеток, экспрессирующих CD22.

Получение антител.

Полиспецифические связывающие соединения согласно данному изобретению могут быть получены при помощи методов, известных в данной области техники. В предпочтительном варианте осуществления антитела, содержащие только тяжелые цепи, в данном случае продуцируются трансгенными животными, включая трансгенных мышей и крыс, предпочтительно крыс, у которых эндогенные гены иммуноглобулина нокаутированы или отключены. В предпочтительном варианте осуществления антитела, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению продуцируются в UniRat™. У UniRat™ гены эндогенного иммуноглобулина подвергнуты сайленсингу, и используется транслокус тяжелой цепи иммуноглобулина человека для экспрессии разнообразного, оптимизированного естественным образом репертуара полностью человеческих HCAb. В то время как эндогенные локусы иммуноглобулина у крыс могут быть нокаутированы или подвергнуты сайленсингу с использованием различных технологий, в UniRat™ для инактивации эндогенного J-локуса тяжелой цепи крысы, локуса C $\kappa$  легкой цепи и локуса C $\lambda$  легкой цепи была использована технология с использованием (эндо)нуклеазы с "цинковыми пальцами" (ZNF). Конструкции ZNF для микроинъекций в ооциты могут продуцировать нокаутные (KO) по IgH и IgL линии. Подробнее см., например, Geurts et al., 2009, Science 325:433. Characterization of Ig heavy chain knockout rats has been reported by Menoret et al., 2010, Eur. J. Immunol. 40:2932-2941. Преимущества технологии ZNF заключаются в том, что негомологичное соединение концов для сайленсинга гена или локуса посредством делеций до нескольких т.п.н. также может обеспечивать сайт-мишень для гомологичной интеграции (Cui et al., 2011, Nat Biotechnol 29:64-67). Человеческие антитела, содержащие только тяжелые цепи, продуцируемые в UniRat™, называются UniAb™ и могут связывать эпитопы, которые нельзя атаковать с помощью обычных антител. Их высокая специфичность, аффинность и небольшой размер делают их идеальными для моно- и полиспецифических применений.

В дополнение к UniAb™, в частности, в данный документ включены антитела, содержащие только тяжелые цепи, лишенные верблюжьего каркаса и мутаций VHH, и их функциональные области VH. Такие антитела, содержащие только тяжелые цепи, могут, например, быть продуцированы у трансгенных крыс или мышей, которые содержат локусы генов, полностью состоящих только из тяжелых цепей человека, как описано, например, в WO2006/008548, но и у других трансгенных млекопитающих, таких как кролик, морская свинка, также можно использовать крыс, причем предпочтительны крысы и мыши. Антитела, содержащие только тяжелые цепи, включая их функциональные фрагменты VHH или VH, также могут быть получены с помощью технологии рекомбинантной ДНК путем экспрессии кодирующей нуклеиновой кислоты в подходящем эукариотическом или прокариотическом хозяине, включая, например, клетки млекопитающих (например, клетки CHO), E. coli или дрожжи.

Домены антител, содержащих только тяжелые цепи, сочетают в себе преимущества антител и низкомолекулярных лекарственных средств: могут быть моновалентными или мультивалентными; обладают

низкой токсичностью; и экономически эффективны в производстве. Из-за их небольшого размера эти домены просты в применении, включая пероральное или местное введение, характеризуются высокой стабильностью, включая стабильность в желудочно-кишечном тракте; и их период полужизни может быть адаптирован к желаемому применению или показаниям. Кроме того, домены VH и VHH HCAb могут быть получены экономически эффективным способом.

В конкретном варианте осуществления антитела, содержащие только тяжелые цепи, согласно данному изобретению, включая UniAb™, имеют нативный аминокислотный остаток в первом положении области FR4 (аминокислотное положение 101 согласно системе нумерации Kabat), замещенный другим аминокислотным остатком, который способен разрушать экспонированный на поверхности гидрофобный участок, содержащий или связанный с нативным аминокислотным остатком в этом положении. Такие гидрофобные участки, как правило, скрыты на поверхности взаимодействия с константной областью легкой цепи антитела, но становятся доступными на поверхности в HCAb и, по меньшей мере частично, служат для нежелательной агрегации и ассоциации легкой цепи HCAb. Замещенный аминокислотный остаток предпочтительно является заряженным и более предпочтительно положительно заряженным, например, лизином (Lys, K), аргинином (Arg, R) или гистидином (His, H), предпочтительно аргинином (R). В предпочтительном варианте осуществления антитела, содержащие только тяжелые цепи, полученные от трансгенных животных, содержат мутацию Trp в Arg в положении 101. Получаемые в результате HCAb предпочтительно обладают высокой аффинностью связывания с антигеном и растворимостью в физиологических условиях в отсутствие агрегации.

В рамках настоящего изобретения были идентифицированы человеческие антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, с уникальными последовательностями от животных UniRat™ (UniAb™), которые связываются с CD22 человека в анализах белков и связывания клеток на основе ИФА. Выявленные последовательности вариабельной области тяжелой цепи (VH) (см. табл. 2) являются положительными в отношении связывания белка CD22 человека и/или в отношении связывания с CD22+ клетками, и все они отрицательны в отношении связывания с клетками, которые не экспрессируют CD22.

Антитела, содержащие только тяжелые цепи, которые связываются с неперекрывающимися эпитопами на белке CD22, например, UniAbs™, можно идентифицировать с помощью анализов конкурентного связывания, таких как иммуноферментные анализы (ИФА) или анализы конкурентного связывания с помощью проточной цитометрии. Например, можно использовать конкуренцию между известными антителами, связывающимися с антигеном-мишенью, и представляющим интерес антителом. Используя этот подход, можно разделить набор антител на те, которые конкурируют с эталонным антителом, и те, которые не конкурируют. Неконкурирующие антитела идентифицируются как связывающиеся с отдельным эпитопом, который не перекрывается с эпитопом, связанным эталонным антителом. Часто одно антитело иммобилизуют, антиген связывается, а второе, меченое (например, биотинилированное) антитело тестируют в анализе на основе ИФА на способность связывать захваченный антиген. Это также можно сделать с помощью платформ для поверхностного плазмонного резонанса (ППР), включая ProteOn XPR36 (BioRad, Inc), Biacore 2000 и Biacore T200 (GE Healthcare Life Sciences) и системе визуализации для ППР MX96 (Ibis technologies BV), а также на других платформах для биослойной интерферометрии, таких как Octet Red384 и Octet HTX (ForteBio, Pall Inc). Для получения дополнительных сведений см. Примеры в данном документе.

Как правило, антитело "конкурирует" с эталонным антителом, если оно вызывает примерно 15-100% снижение связывания эталонного антитела с антигеном-мишенью, как определено стандартными методами, например, с помощью анализов конкурентного связывания, описанных выше. В различных вариантах осуществления относительное ингибирование составляет по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 35%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 45%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или выше.

Фармацевтические композиции, применение и способы лечения.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление фармацевтических композиций, содержащих одно или более полиспецифических связывающих соединений по настоящему изобретению в смеси с подходящим фармацевтически приемлемым носителем. Фармацевтически приемлемые носители, используемые в данном документе, например, но не ограничиваются ими, адъюванты, твердые носители, вода, буферы или другие носители, используемые в данной области для хранения терапевтических компонентов или их комбинаций.

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело, содержащее только тяжелые цепи, (например, UniAb™), которое связывается с CD22. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит полиспецифическое (включая биспецифическое) антитело, содержащее только тяжелые цепи, (например, UniAb™) со специфичностью связывания для двух или более неперекрывающихся эпитопов на белке CD22. В предпочтительном варианте осуществления фар-

мацевтическая композиция содержит полиспецифическое (включая биспецифическое) антитело, содержащее только тяжелые цепи, (например, UniAb™) со специфичностью связывания с CD22 и со специфичностью связывания с мишенью связывания на эффекторной клетке (например, мишенью связывания на Т-клетке, такой как, например, белок CD3 на Т-клетке).

Фармацевтические композиции антител, используемые в соответствии с настоящим изобретением, получают для хранения путем смешивания белков, имеющих желаемую степень чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), например, в виде лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов при используемых дозировках и концентрациях и включают в себя буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметиона; хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее около 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

Фармацевтические композиции для парентерального введения предпочтительно стерильны и по существу изотоничны и произведены согласно условиям правил производства и контроля качества лекарственных средств (GMP). Фармацевтические композиции могут быть предложены в единичной дозированной форме (например, дозировка для единичного введения). Состав зависит от выбранного пути введения. Антитела, описанные в данном документе, могут вводиться посредством внутривенной инъекции или инфузии, или подкожно. Для инъекционного введения, антитела, описанные в данном документе, могут быть составлены в водных растворах, предпочтительно в физиологически-совместимых буферах для уменьшения дискомфорта в месте инъекции. Раствор может содержать носители, эксципиенты или стабилизаторы как описано выше. В качестве альтернативы, антитела могут быть лиофилизированы для смешивания с подходящим носителем, например, стерильной апиrogenной водой, перед использованием.

Составы антител описаны, например, в патенте США № 9034324. Подобные составы могут быть использованы для антител, содержащих только тяжелые цепи, включая UniAb™, по данному изобретению. Составы антител для подкожного введения описаны, например, в патентах US20160355591 и US20160166689.

Способы применения.

Антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, полиспецифические антитела и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно применять для лечения заболеваний и патологических состояний, характеризующихся экспрессией CD22, включая, без ограничения, патологические состояния и заболевания, описанные далее в данном документе.

CD22 представляет собой трансмембранный белок типа I массой 135 кДа, который экспрессируется на низких уровнях на пре-В-клетках и незрелых В-клетках, максимально на зрелых В-клетках, а на плазматических клетках его экспрессия полностью подавлена (например, Walker et al., Immunology, 2008 Mar; 123(3) 314-25). CD22 сильно экспрессируется в В-клетках фолликулярной (первичные и вторичные В-клеточные зоны), мантийной и маргинальной зоны и, как сообщается, присутствует в 60-80% образцов от пациентов со злокачественными В-клетками (Alderson et al., Clin. Cancer Res 2009; 15(3) February 11, 2009). Из-за его наблюдаемой экспрессии при ряде гематологических злокачественных новообразований CD22 является многообещающей мишенью для терапевтических средств на основе антител.

В одном аспекте антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, (например, UniAbs™) и фармацевтические композиции согласно данному изобретению могут быть использованы для лечения гематологических злокачественных опухолей, характеризующихся экспрессией CD22, включая, без ограничения, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ), неходжкинскую лимфому, В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (ДККЛ или ДВККЛ) является наиболее распространенной формой неходжкинской лимфомы среди взрослых (Blood 1997 89 (11): 3909-18), с оценкой ежегодной заболеваемости от 7 до 8 случаев на 100000 человек в год в США и Великобритании. Он характеризуется как агрессивный рак, который может возникнуть практически в любой части тела. Причины ДККЛ не совсем понятны, и он может возникать из-за нормальных В-клеток, а также злокачественной трансформации других типов лимфомных или лейкозных клеток. Подходы к лечению, как правило,

включают химиотерапию и лучевую терапию, и в результате общая пятилетняя выживаемость у взрослых составляет около 58%. Хотя некоторые моноклональные антитела оказались многообещающими для лечения ДККЛ, последовательная клиническая эффективность еще не была окончательно продемонстрирована. Следовательно, существует большая потребность в новых видах терапии, включая иммунотерапию, для ДКЛЛ.

В другом аспекте антитела к CD22, содержащие только тяжелые цепи, (например, UniAb™) и фармацевтические композиции согласно данному изобретению могут быть использованы для лечения аутоиммунных нарушений, характеризующихся вызываемыми заболеванием В-клетками, которые экспрессируют CD22, включая, без ограничения, системную красную волчанку (СКВ), ревматоидный артрит (РА) и рассеянный склероз (РС).

Эффективные дозы композиций согласно данному изобретению для лечения заболевания варьируются в зависимости от многих различных факторов, включая способы введения, место назначения, физиологическое состояние пациента, является ли пациент человеком или животным, вводятся ли другие лекарственные препараты, и является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Обычно пациентом является человек, но млекопитающих, отличных от человека, также могут лечить, например, домашних животных, таких как собаки, кошки, лошади и т. д., лабораторные млекопитающие, такие как кролики, мыши, крысы и т.д., и тому подобное. Для оптимизации безопасности и эффективности можно подбирать лекарственные дозировки.

Уровни дозировки могут быть легко определены обычным квалифицированным врачом и могут быть изменены при необходимости, например, при необходимости изменения реакции субъекта на терапию. Количество действующего вещества, которое можно комбинировать с материалами носителя для получения единичной лекарственной формы, варьируется в зависимости от хозяина, который поддается лечению, и конкретного способа введения. Единичные дозированные формы, как правило, содержат от около 1 до около 500 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах осуществления терапевтическая дозировка агента может составлять от около 0,0001 до 100 мг/кг и более обычно от 0,01 до 5 мг/кг от массы тела хозяина. Например, дозировка может составлять 1 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела или в пределах 1-10 мг/кг. Иллюстративный режим лечения включает введение один раз каждые две недели или один раз в месяц или один раз каждые 3-6 месяцев. Терапевтические вещества по настоящему изобретению обычно вводят несколько раз. Интервалы между однократными дозами могут быть еженедельными, ежемесячными или ежегодными. Интервалы также могут быть нерегулярными, на что указывает измерение уровня терапевтического вещества в крови пациента. Альтернативно, терапевтические вещества по настоящему изобретению можно вводить в виде композиции с замедленным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Дозировка и частота варьируются в зависимости от периода полужизни полипептида у пациента.

Как правило, композиции готовят в виде инъекционных препаратов, либо в виде жидких растворов, либо суспензий; также могут быть получены твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидких носителях перед инъекцией. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, подходят для внутривенного или подкожного введения, непосредственно или после восстановления из твердой (т.е. лиофилизированной) композиции. Препарат также может быть эмульгирован или инкапсулирован в липосомы или микрочастицы, такие как полилактид, полигликолид или сополимер, для усиления адьювантного эффекта, как описано выше. Langer, *Science* 249: 1527, 1990 and Hanes, *Advanced Drug Delivery Reviews* 28: 97-119, 1997. Агенты согласно данному изобретению можно вводить в форме депо-инъекции или препарата имплантата, который может быть составлен таким образом, чтобы обеспечить длительное или пульсирующее высвобождение действующего вещества. Фармацевтические композиции, как правило, составлены как стерильные, практически изотонические и полностью соответствующие всем нормам Правил производства и контроля качества лекарственных средств (GMP) Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США.

Токсичность антител и структур антител, описанных в данном документе, может быть определена стандартными фармацевтическими процедурами на клеточных культурах или экспериментальных животных, например, путем определения LD50 (доза, летальная для 50% популяции) или LD100 (доза, летальная для 100% популяции). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектом является терапевтическим показателем. Данные, полученные из этих анализов клеточных культур и исследований на животных, могут быть использованы при составлении диапазона доз, который не токсичен для применения у людей. Дозировка антител, описанных в данном документе, предпочтительно находится в диапазоне циркулирующих концентраций, которые включают эффективную дозу с небольшой токсичностью или без нее. Дозировка может варьироваться в пределах данного диапазона в зависимости от используемой дозы и используемого пути введения. Точный состав, способ введения и дозировка могут быть выбраны индивидуально врачом с учетом состояния пациента.

Композиции для введения, как правило, включают антитело или другой агент (например, другой абляционный агент), растворенный в фармацевтически приемлемом носителе, предпочтительно в водном носителе. Могут быть использованы различные водные носители, например, забуференный солевой рас-

твор и тому подобное. Данные растворы являются стерильными и, как правило, не содержат нежелательных веществ. Данные композиции могут быть стерилизованы обычными, хорошо известными способами стерилизации. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения их к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH агенты и буферные агенты, регулирующие токсичность агенты и тому подобное, например ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия и тому подобное. Концентрация активного агента в данных составах может варьироваться в широких пределах и будет выбираться в основном на основе объемов жидкости, вязкости, массы тела и тому подобного в соответствии с конкретным выбранным способом введения и потребностями пациента (например, Remington's Pharmaceutical Science (15th ed., 1980) и Goodman & Gillman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman et al., eds., 1996)).

Также в объем изобретения входят наборы, содержащие активные агенты и их составы, изобретения и инструкции по применению. Набор может дополнительно содержать по меньшей мере один дополнительный компонент, например, химиотерапевтический препарат и др. Наборы, как правило, включают этикетку, указывающую на предполагаемое применение содержимого набора. Используемый в данном документе термин "этикетка" включает любые письменные или записанные материалы, предоставляемые в наборе или вместе с ним, или иным образом сопровождающие набор.

Теперь, когда изобретение полностью описано, для специалиста в данной области техники будет очевидно, что различные изменения и модификации могут быть сделаны без отклонения от сущности или объема изобретения.

### Примеры

Материалы и способы.

Связывание белка CD22.

Эксперименты по кинетическому связыванию для определения аффинности антиген-антитело проводили на системе Octet QK-384 (ForteBio) с использованием биослойной интерферометрии. Биосенсоры для захвата Fc IgG человека (АНС) (Forte Bio, Part No: 18-5064) гидратировали в буфере для анализа (1x PBS, 0,1% BSA, 0,02% Tween-20, pH 7,2) и предварительно обрабатывали в 100 мМ глицине, pH 1,5. Исходный уровень был установлен на буфере для анализа в течение 120 секунд. Затем биосенсоры АНС иммобилизовали с помощью UniAb™ в концентрации 5 мкг/мл в течение 120 секунд. Другой исходный уровень (120 секунд) был установлен на буфере для анализа. Затем их погружали в серию 7-точечных разведений 1: 2 человеческого белка CD22 в буфере для анализа, начиная с 250 нМ. Последняя лунка колонки с аналитом содержала только буфер для анализа для тестирования неспецифического связывания между буфером и загруженными биосенсорами и использовалась в качестве контрольной лунки. Ассоциацию наблюдали в течение 600 секунд, после чего следовала диссоциация в течение 900 секунд. Анализ данных выполняли с помощью программы Octet Data Analysis v9.0 (ForteBio). Кинетику связывания анализировали с использованием стандартной модели связывания 1:1.

Связывание CD22 клеток.

Связывание с CD22-положительными клетками оценивали с помощью проточной цитометрии (Guava easyCyte 8HT, EMD Millipore) с использованием линии клеток Daudi (ATCC). Вкратце, 100000 клеток-мишеней окрашивали серийной разведений очищенного UniAb™ в течение 30 минут при 4°C. После инкубации клетки дважды промывали буфером для проточной цитометрии (1X PBS, 1% BSA, 0,1% NaN<sub>3</sub>) и окрашивали козьим F(ab')<sub>2</sub> к человеческому IgG, конъюгированным с R-фикоэритрином (PE) (Southern Biotech, кат. № 2042-09), для обнаружения связанных с клетками антител. После 20-минутной инкубации при 4°C клетки дважды промывали буфером для проточной цитометрии и затем измеряли среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) с помощью проточной цитометрии. Значения EC<sub>50</sub> рассчитывали с использованием GraphPad Prism 7. Связывание с CD22-положительными клетками яванского макака определяли с использованием того же протокола со следующими модификациями: клетки-мишени представляли собой клетки CHO, стабильно трансфицированные для экспрессии внеклеточного домена CD22 яванского макака, и каждое антитело тестировали в одной концентрации (~1,7 мкг/мл) поэтому значения EC<sub>50</sub> не были рассчитаны.

Пример 1. Генетически сконструированные крысы, экспрессирующие антитела, содержащие только тяжелые цепи.

Локус IgH человека и крысы был сконструирован и собран из нескольких частей. Это включало модификацию и объединение генов C-области крысы ниже J<sub>H</sub> человека, а затем добавление выше области V<sub>H</sub>6 -D-сегмента человека. Два VAC с отдельными кластерами генов V<sub>H</sub> человека [VAC6 и VAC3] затем совместно вводили с помощью VAC, называемого Georg, кодирующим собранную и модифицированную область, включающую V<sub>H</sub>6 человека, все D, все J<sub>H</sub>, и модифицированный C<sub>γ</sub>2a/1/2b (ΔC<sub>H</sub>1) крысы.

Были получены трансгенные крысы, несущие искусственные локусы иммуноглобулинов тяжелой цепи в неупорядоченной конфигурации. В генах IgG2a(ΔC<sub>H</sub>1), IgG1(ΔC<sub>H</sub>1), IgG2b(ΔC<sub>H</sub>1) отсутствует сегмент C<sub>H</sub>1. Гены константной области IgE, IgA и 3'-энхансер были включены в VAC Georg. ПЦР-РВ и анализ сыворотки (ИФА) трансгенных крыс выявили продуктивную перестройку локусов трансгенных иммуноглобулинов и экспрессию антител, содержащих только тяжелые цепи, различных изотипов.

Трансгенные крысы скрещивались с крысами с мутированными эндогенными локусами тяжелой цепи и легкой цепи, ранее описанными в публикации патента США 2009/0098134 A1. Анализ таких животных продемонстрировал инактивацию экспрессии тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина крысы и высокий уровень экспрессии антител, содержащих только тяжелые цепи, с переменными областями, кодируемыми генами V, D и J человека. Иммунизация трансгенных крыс приводила к получению сывороточных ответов с высоким титром антигенспецифических антител, содержащих только тяжелые цепи. Эти трансгенные крысы, экспрессирующие антитела, содержащие только тяжелые цепи, с областью VDJ человека, были названы UniRat™.

Пример 2. Иммунизация.

Иммунизация рекомбинантным внеклеточным доменом CD22.

Двенадцать животных UniRat (6 HC27, 6 HC28) были иммунизированы рекомбинантным белком CD22 человека. Животных иммунизировали в соответствии со стандартным протоколом с использованием адьюванта Titermax/Alhydrogel. Рекомбинантный внеклеточный домен CD22 был приобретен у R&D Systems и разбавлен стерильным физиологическим раствором и объединен с адьювантом. Иммуноген комбинировали с адьювантами Titermax и Alhydrogel. Первая иммунизация (прайминг) иммуногеном в Titermax проводилась на левой и правой лапах. Последующие бустерные иммунизации были проведены в присутствии Alhydrogel и за три дня до отбора бустов были проведены иммуногеном в PBS. Сыворотку собирали у крыс при последнем заборе крови для определения сывороточных титров.

Результаты для титров в сыворотке.

Сводная информация о титрах в сыворотке приведена на фиг. 17. На графиках, изображенных на фиг. 17, каждая линия представляет отдельное животное. На легендах графиков показан идентификационный номер каждого отдельного животного. Связывающую активность для серии разведений сыворотки по 8 точкам тестировали с помощью ИФА против белка huCD22 с Fc, huCD22 с His-меткой, белка CD22 макаки-резус с His-меткой и нецелевого белка с His-меткой. Среди этой группы животных наблюдали диапазон уровней реактивности сыворотки к белку CD22 как человека, так и макаки-резус. Также наблюдали сывороточный ответ на белок с His-меткой.

Пример 3. Связывание с CD22-экспрессирующими линиями клеток.

На фиг. 16 показана активность связывания с мишенью описанных в данном документе антител к CD22, содержащих только тяжелые цепи. В столбце 1 указан идентификационный номер клона антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи. В столбце 2 показана аффинность связывания с белком (KD), измеренную в молярной концентрации. В столбце 3 указана константа диссоциации связывания с белком (Koff), измеренная в секундах. В столбце 4 показано связывание с клетками Daudi, измеренное в виде кратности сигнала по отношению к фоновому сигналу СИФ. В столбце 5 показано связывание с клетками CHO, стабильно экспрессирующими CD22 яванского макака, измеренное в виде кратности сигнала по отношению к фоновому сигналу СИФ. В столбце 6 показано связывание с клетками CHO, которые не экспрессируют белок CD22, измеренное в виде кратности сигнала по отношению к фоновому сигналу СИФ.

Пример 4. Опосредованная Т-клетками цитотоксичность CD22-положительных клеток с использованием покоящихся человеческих пан-Т-клеток.

Нестимулированные человеческие Т-клетки инкубировали с CD22-положительными клетками (Daudi) и различными концентрациями биспецифических антител. Через 48 часов проводили проточную цитометрию клеток для измерения цитотоксичности. Супернатанты клеточной культуры использовали для измерения высвобождения цитокина ИЛ-2. Антитело положительного контроля относится к антителу, которое содержит такое же плечо к CD22, но более сильную аффинность плеча к CD3. Результаты представлены на фиг. 1А и фиг. 1В.

Нестимулированные человеческие Т-клетки инкубировали с CD22-положительными клетками (SUDHL10) и различными концентрациями биспецифических антител. Через 72 часов проводили проточную цитометрию клеток для измерения цитотоксичности. Супернатанты клеточной культуры использовали для измерения высвобождения цитокина ИЛ-2. Антитело положительного контроля относится к антителу, которое содержит такое же плечо к CD22, но более сильную аффинность плеча к CD3. Результаты представлены на фиг. 2А и фиг. 2В.

Нестимулированные человеческие Т-клетки инкубировали с CD22-положительной линией клеток DL-BCL (RI-1) и различными концентрациями биспецифических антител с различным соотношением эффектор: клетки-мишени (Е: Т) 10: 1, 5: 1 или 1: 1. Через 72 часа проводили проточную цитометрию клеток для измерения цитотоксичности. Супернатанты клеточной культуры использовали для измерения высвобождения цитокина ИЛ-2. Антитело положительного контроля относится к антителу, которое содержит такое же плечо к CD22, но более сильную аффинность плеча к CD3. Данные демонстрируют, что % цитотоксичности зависит от соотношения Е: Т. Результаты представлены на фиг. 3А и фиг. 3В.

Пример 5. Опосредованная Т-клетками цитотоксичность CD22-положительных клеток с использованием активированных человеческих пан-Т-клеток.

Активированные человеческие Т-клетки инкубировали с CD22-положительными клетками (Daudi и RI-1) или CD22-отрицательной линией клеток (K562) и различными концентрациями биспецифических

антител. Лизис клеток измеряли с использованием считывания флуоресценции кальцеина. Биспецифическое связывающее соединение CD22xCD3\_F2F специфически вызывало лизис CD22+ клеток, но не клеток CD22-K562. Антитело положительного контроля относится к антителу, которое содержит такое же плечо к CD22, но более сильную аффинность плеча к CD3. Отрицательный контроль относится к антителу с неспецифическим к опухоли плечом и тем же плечом к CD3, что и анти-CD3\_F2F. Результаты представлены на фиг. 4.

Пример 6. Связывание биспецифических антител против CD22 и CD3 с клетками.

CD22-положительные клетки Daudi, Raji, Ramos и CD22-отрицательные клетки K562 инкубировали с биспецифическими антителами. Связывание клеток измеряли при помощи проточной цитометрии с использованием реагента вторичных антител к IgG человека. Данные демонстрируют, что биспецифические антитела связываются с CD22+ клетками, но не с CD22- клетками. Антитело положительного контроля относится к антителу, которое содержит такое же плечо к CD22, но более сильную аффинность плеча к CD3. Отрицательный контроль относится к антителу с неспецифическим к опухоли плечом и тем же плечом к CD3, что и анти-CD3\_F2F. Результаты представлены на фиг. 5.

Пример 7. Исследование эффективности *in vivo* с CD22-1 x CD3F2F на ксенотрансплантатах Daudi.

Чтобы проверить *in vivo* эффективность CD22-1 x CD3F2F, различные дозы CD22-1 x CD3\_F2F вводили самкам мышей NSG, которым имплантировали клетки Daudi (5e6 клеток/мышь), как показано на фиг. 6. Схема лечения показана ниже в табл. 8. Для оценки эффективности лечения использовали средний объем опухоли, массу тела, процент изменения массы тела и индивидуальный объем опухоли.

Таблица 8

## Примерная схема лечения

Группа	Лечение	Доза	Способ введения	n	Схема
1	PBS	---	в/б	10	
2	CD22-1 CD3 F2F	x 0,05 (1 мк/мышь)	в/б	10	2 раза в неделю (каждые 3–4 дня) x 4
3	CD22-1 CD3 F2F	x 0,5 (10 мкг/мышь)	в/б	10	2 раза в неделю (каждые 3–4 дня) x 4
4	CD22-1 CD3 F2F	x 2,5 (50 мкг/мышь)	в/б	10	2 раза в неделю (каждые 3–4 дня) x 4
5	ViTe к CD19 CD3	x 0,05 (1 мк/мышь)	в/б	10	ежедневно x 10
6	Ритуксимаб	15 (300 мкг/мышь)	в/б	10	2 раза в неделю (каждые 3–4 дня) x 4

Данные CD22-1 x CD3F2F показаны на фиг. 7-13, по сравнению с отрицательным контролем и ритуксимабом, и демонстрируют эффективность CD22-1 x CD3\_F2F.

Несмотря на то что в данном документе были показаны и описаны предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения, специалистам в данной области техники будет очевидно, что данные варианты осуществления приведены исключительно с целью иллюстрации. Множество вариаций, изменений и замен будут очевидны специалистам в данной области техники без отхода от объема и сущности настоящего изобретения. Следует понимать, что различные альтернативные варианты осуществления данного изобретения, описанные в данном документе, могут применяться при практической реализации данного изобретения. Предполагается, что нижеследующая формула изобретения определяет объем изобретения и, что таким образом охватываются способы и структуры в пределах объема данной формулы изобретения и их эквивалентов.

## Перечень последовательностей

<110> TENEOBIO, INC.

<120> ПОЛИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА, СОДЕРЖАЩИЕ ТОЛЬКО ТЯЖЕЛЫЕ ЦЕПИ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С CD22 И CD3

<130> TNO-0017-WO

<140> PCT/US2020/037566

<141> 12.06.2020

<150> 62/861708

<151> 14.06.2019

<160> 107

<170> PatentIn версии 3.5

<210> 1  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 1  
Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 2  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 2  
Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 3  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 3  
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 4  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 4  
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 5  
<211> 8

<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 5  
Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr  
1 5

<210> 6  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 6  
Gly Asp Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 7  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 7  
Gly Gly Ser Ile Thr Ser Ser Ser Tyr Tyr  
1 5 10

<210> 8  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 8  
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser His Tyr  
1 5 10

<210> 9  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 9  
 Gly Gly Ser Ile Ile Ser Ser Ser Tyr Tyr  
 1 5 10

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

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 10  
 Gly Gly Ser Ile Asn Asp Asn Ser His Tyr  
 1 5 10

<210> 11  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 11  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr  
 1 5

<210> 12  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 12  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr  
 1 5

<210> 13  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический

пептид»

<400> 13  
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr  
1 5

<210> 14  
<211> 7  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 14  
Ile Tyr Tyr Thr Gly Ser Thr  
1 5

<210> 15  
<211> 7  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 15  
Val Tyr Tyr Thr Gly Ala Thr  
1 5

<210> 16  
<211> 7  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 16  
Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr  
1 5

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

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 17

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala  
1 5

<210> 18  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 18  
Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser  
1 5 10

<210> 19  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 19  
Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser  
1 5 10

<210> 20  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 20  
Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser  
1 5 10

<210> 21  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 21  
Ala Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser  
1 5 10

<210> 22  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 22  
 Lys Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser  
 1 5 10

<210> 23  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 23  
 Ala Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser  
 1 5 10

<210> 24  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 24  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30  
 Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

## 048216

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 25

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

048216

<400> 26

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 27

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 27

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

## 048216

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 28

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 28

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 29

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

048216

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 29

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 30

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 30

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

## 048216

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 31

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 31

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 32

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 32

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 33

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 33

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

## 048216

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 34

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 34

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

048216

<210> 35  
<211> 118  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 35  
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 36  
<211> 118  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 36  
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu



115

<210> 38  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 38  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30  
  
 Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
  
 Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
  
 Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
  
 Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
  
 Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 39  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 39  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

048216

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 40

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 40

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 41

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 41

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 42

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 42

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

## 048216

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 43

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 43

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

## 048216

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 44

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 44

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 45

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 45

## 048216

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 46

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 46

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

## 048216

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 47

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 47

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 48

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический

полипептид»

&lt;400&gt; 48

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg His Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 49

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe



## 048216

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 51

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 52

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

## 048216

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 53

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 53

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 54

<211> 118

## 048216

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 54

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 116

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 55

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

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

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

## 048216

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

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

Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr  
85 90 95

Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 56

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 56

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

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

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 57  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 57  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 58  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 58  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 20 25 30

## 048216

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 59

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 59

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Ser  
20 25 30

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 60  
<211> 118  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
  
<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 60  
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 61  
<211> 118  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
  
<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 61  
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser



100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 63

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 64

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

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

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 65

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 65

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

## 048216

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 66

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 66

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 67

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

## 048216

&lt;400&gt; 67

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 68

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

048216

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 69

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 69

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 70

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

048216

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 70

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 71

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 71

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

## 048216

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 72

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 72

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Met Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 73

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 73

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 74

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser



## 048216

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

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 76  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly Ser Val Tyr Tyr Thr Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 77  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 77  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Phe Arg His Pro Pro Gly Lys Gly Leu Asp  
 35 40 45

048216

Trp Ile Gly Ser Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 78

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 78

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

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

Ser His Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 79  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 79  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 80  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 80  
 Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 20 25 30

048216

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 81

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 81

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr His Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 82

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 82

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 83

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 83

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

## 048216

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 84

<211> 118

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 84

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Asp Asn  
20 25 30

Ser His Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

048216

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 85

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 85

Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr Ala  
1 5

<210> 86

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 86

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile  
1 5

<210> 87

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 87

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr  
1 5 10 15

<210> 88

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

&lt;400&gt; 88

Gln Ser Val Ser Ser Asn

1 5

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

&lt;400&gt; 89

Gly Ala Ser

1

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

&lt;400&gt; 90

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Trp Thr

1 5

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 142

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 91

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr



048216

<400> 93

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
245 250 255

048216

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 94  
 <211> 327  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<400> 94  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140

## 048216

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 95

<211> 330

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 95

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1 5 10 15

048216

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325 330

<210> 96

<211> 327

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 96

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

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

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 97

<211> 214

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 97

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

## 048216

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 98

<211> 453

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

048216

<400> 98

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr  
100 105 110

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

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

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

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

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
180 185 190

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

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

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

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



## полипептид»

&lt;400&gt; 99

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr  
 100 105 110

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

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

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

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

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190

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

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

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

## 048216

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 405 410 415

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys  
 450

<210> 100

<211> 450

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

## 048216

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<400> 100

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr  
100 105 110

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

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

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

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

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
180 185 190

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys  
210 215 220

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

## 048216

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu  
260 265 270

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys  
450

<210> 101

<211> 450

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

## 048216

&lt;221&gt; источник

&lt;223&gt; /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

&lt;400&gt; 101

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr  
 100 105 110

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

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

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

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

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys  
 210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly  
 225 230 235 240

## 048216

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu  
 260 265 270

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys  
 450

<210> 102

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 102  
Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5

<210> 103  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<400> 103  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10

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

<220>  
<221> источник  
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<220>  
<221> ВАРИАНТ  
<222> (2)..(2)  
<223> /заменить="Gly"

<220>  
<221> ВАРИАНТ  
<222> (5)..(5)  
<223> /заменить="Thr" или "Ile", или "Asn"

<220>  
<221> ВАРИАНТ  
<222> (6)..(6)  
<223> /заменить="Asp"

<220>  
<221> ВАРИАНТ  
<222> (7)..(7)  
<223> /заменить="Ser" или "Asn"

<220>  
<221> ВАРИАНТ  
<222> (8)..(8)  
<223> /replace="Gly" или "Ser"

<220>  
<221> ВАРИАНТ

<222> (9)..(9)  
 <223> /заменить="His"  
  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (1)..(10)  
 <223> /примечание="Вариантные остатки, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по сравнению с приведенными в сносках для вариантных положений"  
  
 <400> 104  
 Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr  
 1 5 10  
  
 <210> 105  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание="Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид"  
  
 <220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (1)..(1)  
 <223> /заменить="Val"  
  
 <220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (2)..(2)  
 <223> /заменить="His"  
  
 <220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (4)..(4)  
 <223> /заменить="Thr"  
  
 <220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (6)..(6)  
 <223> /заменить="Val" or "Ser"  
  
 <220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (7)..(7)  
 <223> /заменить="Ala"  
  
 <220>  
 <221> SITE  
 <222> (1)..(7)  
 <223> /примечание="Вариантные остатки, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по сравнению с приведенными в сносках для вариантных положений"  
  
 <400> 105  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr  
 1 5

<210> 106  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид»

<220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (1)..(1)  
 <223> /заменить="Ala" или "Lys"

<220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (3)..(3)  
 <223> /заменить="Glu"

<220>  
 <221> ВАРИАНТ  
 <222> (7)..(7)  
 <223> /заменить="Ser"

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (1)..(10)  
 <223> /примечание="Вариантные остатки, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по сравнению с приведенными в сносках для вариантных положений"

<400> 106  
 Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser  
 1                    5                    10

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

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид»

<220>  
 <221> SITE  
 <222> (1)..(50)  
 <223> /примечание=«Эта последовательность может охватывать 1-10 единицы повтора «Gly Gly единиц «Gly Gly Gly Gly Ser»

<220>  
 <221> источник  
 <223> /примечание=«См. описание, как подано для детального описания замещений и предпочтительных вариантов осуществления»

<400> 107

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
35 40 45

Gly Ser  
50

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полиспецифическое антитело, содержащее первую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD22 и вторую связывающую единицу, имеющую аффинность связывания с CD3, где первая связывающая единица содержит вариабельную область, содержащую:

(a) последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 11 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 18;

(b) последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 19; или

(c) последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 20; и

где вторая связывающая единица содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую: последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 87; и

(b) вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 90.

2. Полиспецифическое антитело по п.1, где первая связывающая единица содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 25.

3. Полиспецифическое антитело по п.1, где первая связывающая единица содержит вариабельную область тяжелой цепи последовательности SEQ ID NO: 25.

4. Полиспецифическое антитело по п.1, в котором указанные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасе VH человека.

5. Полиспецифическое антитело по любому из пп.1-4, которое является биспецифическим.

6. Полиспецифическое антитело, содержащее:

(i) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аффинность связывания с CD3, содержащую последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 85, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 86 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 87 в каркасе VH человека;

(ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 88, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 89 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 90 в каркасе VL человека; и

(iii) антигенсвязывающий домен антитела к CD22, содержащего только тяжелые цепи, содержащий последовательность CDR1 согласно SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 согласно SEQ ID NO: 12 и последовательность CDR3 согласно SEQ ID NO: 19 в каркасе VH человека.

7. Полиспецифическое антитело по любому из пп.1-6, содержащее область Fc IgG1 человека.

8. Полиспецифическое антитело по п.7, в котором область Fc IgG1 человека представляет собой подвергнутую сайленсингу область Fc IgG1 человека.

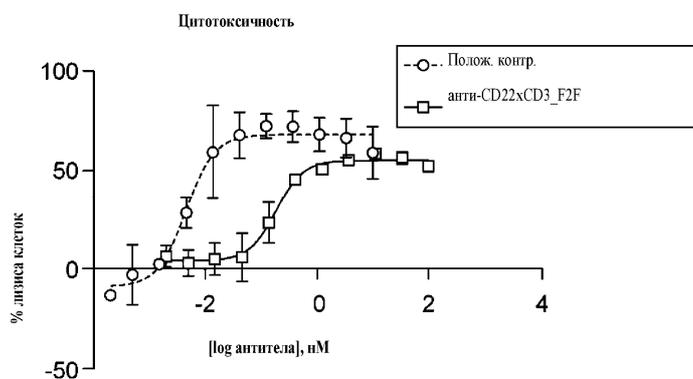
9. Полиспецифическое антитело по любому из пп.1-6, содержащее область Fc IgG4 человека.

10. Полиспецифическое антитело по п.9, где область Fc IgG4 человека содержит мутацию в области шарнира.

11. Полиспецифическое антитело по п.9, где область Fc IgG4 человека содержит множество мутаций выступ-во-впадину.

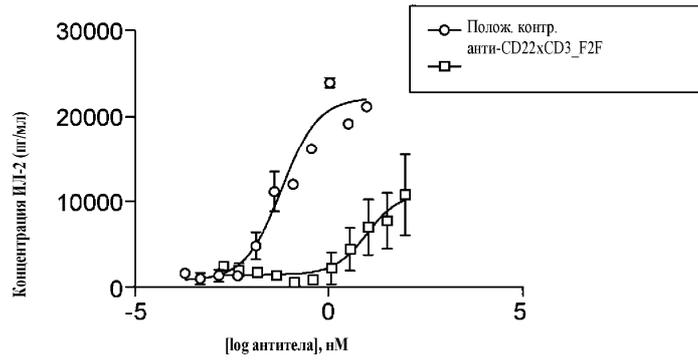
12. Полиспецифическое антитело по п.9, где область Fc IgG4 человека содержит С-концевой лизин.

13. Полиспецифическое антитело по п.9, где область Fc IgG4 человека не содержит C-концевой лизин.
14. Полиспецифическое антитело по п.9, в котором область Fc IgG4 человека представляет собой подвергнутую сайленсингу область Fc IgG4 человека.
15. Применение полиспецифического антитела по любому из пп.1-14 при лечении В-клеточного нарушения, характеризующегося экспрессией CD22.
16. Применение по п.15, в которых нарушение выбрано из группы, состоящей из диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), неходжкинской лимфомы (НХЛ), системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА) и рассеянного склероза (РС).
17. Применение по п.15, где расстройство представляет собой В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз.
18. Применение по п.15, где расстройство представляет собой фолликулярную лимфому.
19. Полиспецифическое антитело по п.1, в котором вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 92.
20. Полиспецифическое антитело по п.19, в котором вариабельная область тяжелой цепи, имеющая аффинность связывания с CD3, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 98.
21. Полиспецифическое антитело по п.19, в котором вариабельная область тяжелой цепи, имеющая аффинность связывания с CD3, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 99.
22. Полиспецифическое антитело по п.19, в котором вариабельная область тяжелой цепи, имеющая аффинность связывания с CD3, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 100.
23. Полиспецифическое антитело по п.19, в котором вариабельная область тяжелой цепи, имеющая аффинность связывания с CD3, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 101.
24. Полиспецифическое антитело по любому из пп.1-23, имеющее формат CAR-T.
25. Фармацевтическая композиция, содержащая полиспецифическое антитело по любому из пп.1-24.
26. Применение полиспецифического антитела по любому из пп.1-14 или 19-24 при приготовлении лекарственного препарата для лечения В-клеточного нарушения, характеризующегося экспрессией CD22.
27. Применение по п.26, где нарушение выбрано из группы, состоящей из диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), неходжкинской лимфомы (НХЛ), системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА) и рассеянного склероза (РС).
28. Применение по п.26, где расстройство представляет собой В-клеточную хроническую лимфоцитарную лейкемию.
29. Применение по п.26, где расстройство представляет собой фолликулярную лимфому.
30. Полинуклеотид, кодирующий полиспецифическое антитело по любому из пп.1-14 или 19-24.
31. Вектор, содержащий полинуклеотид по п.30.
32. Клетка, содержащая вектор по п.31.



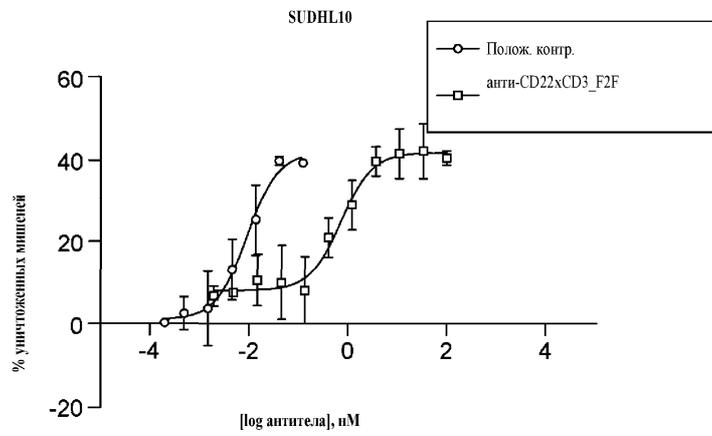
Фиг. 1А

Высвобождение цитокинов



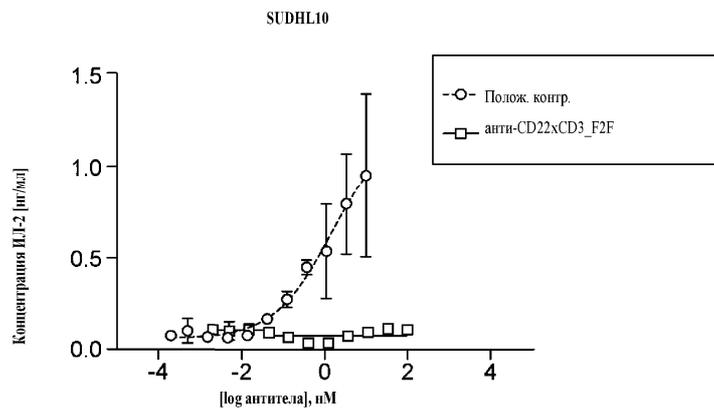
Фиг. 1B

Цитотоксичность

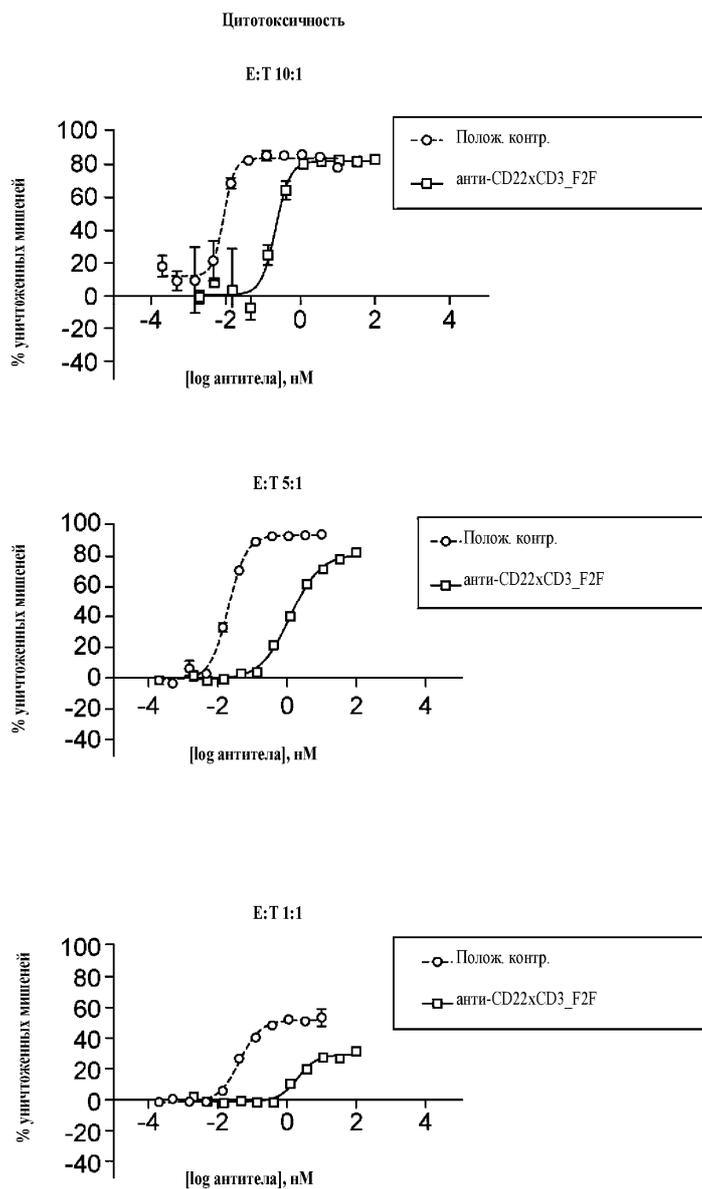


Фиг. 2A

Высвобождение цитокинов

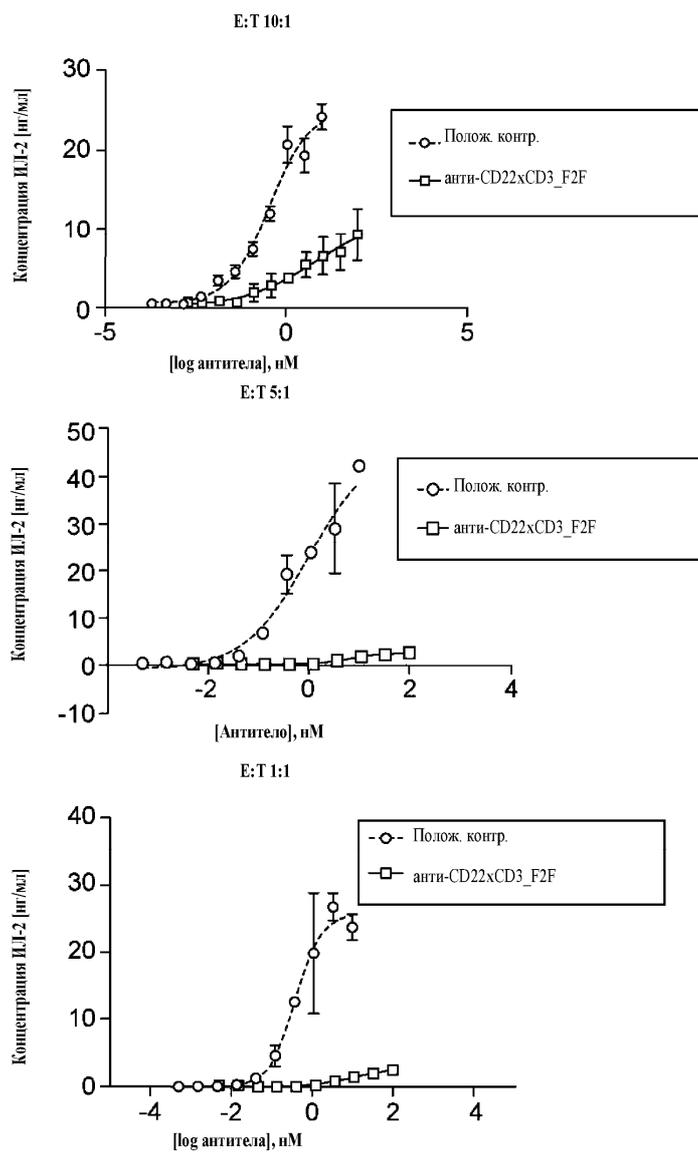


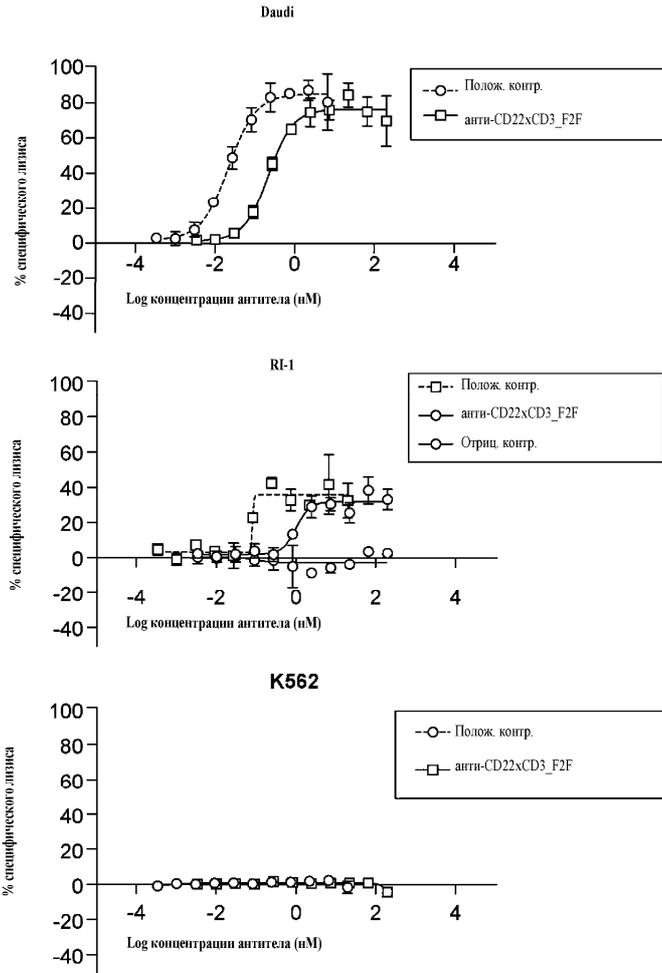
Фиг. 2B



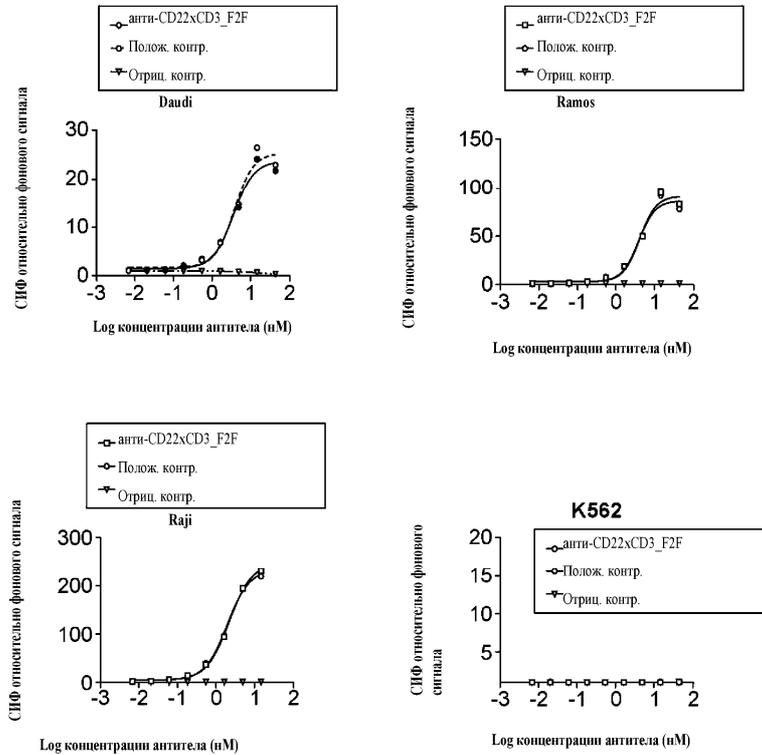
Фиг. 3А

## Высвобождение цитокинов

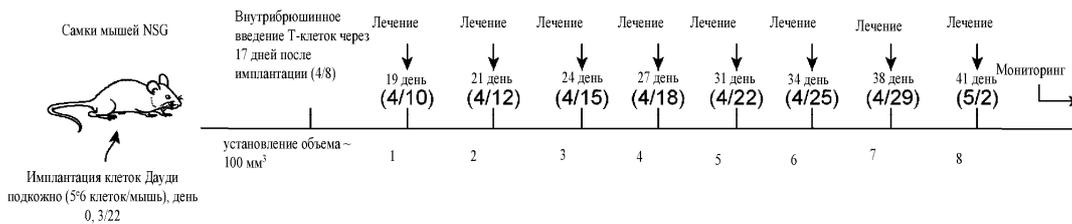




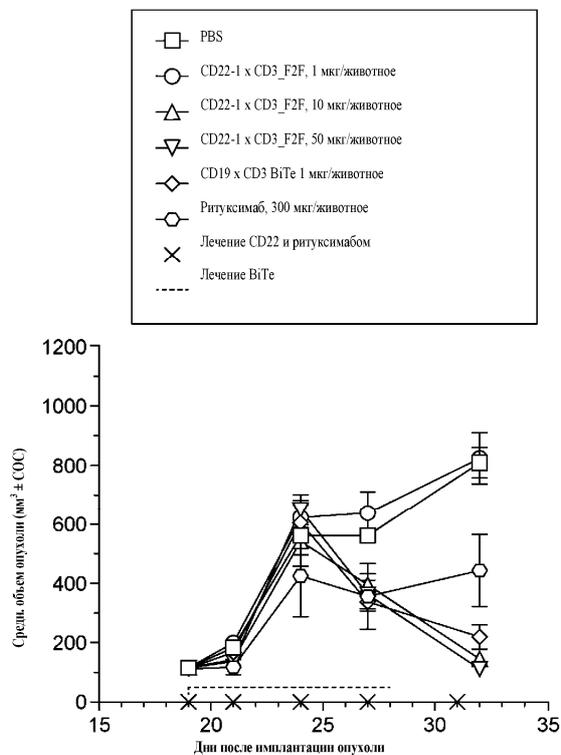
Фиг. 4



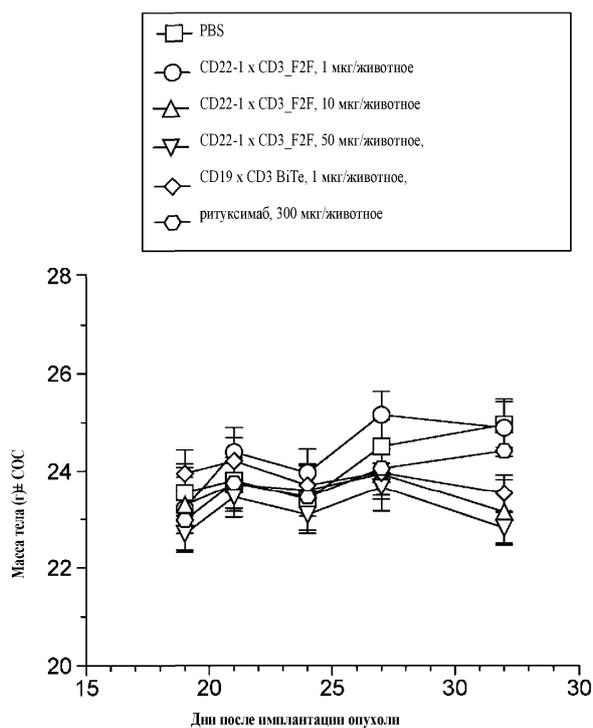
Фиг. 5



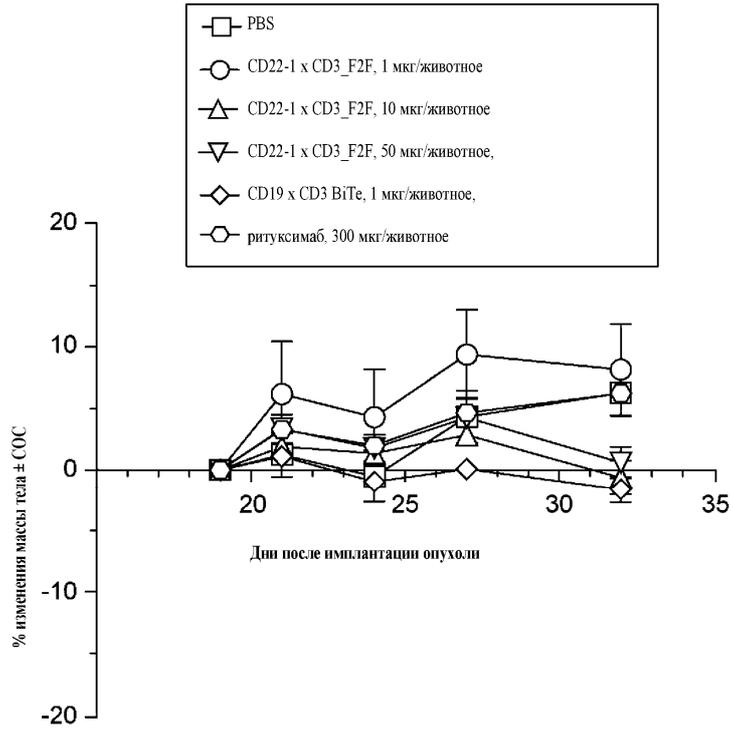
Фиг. 6



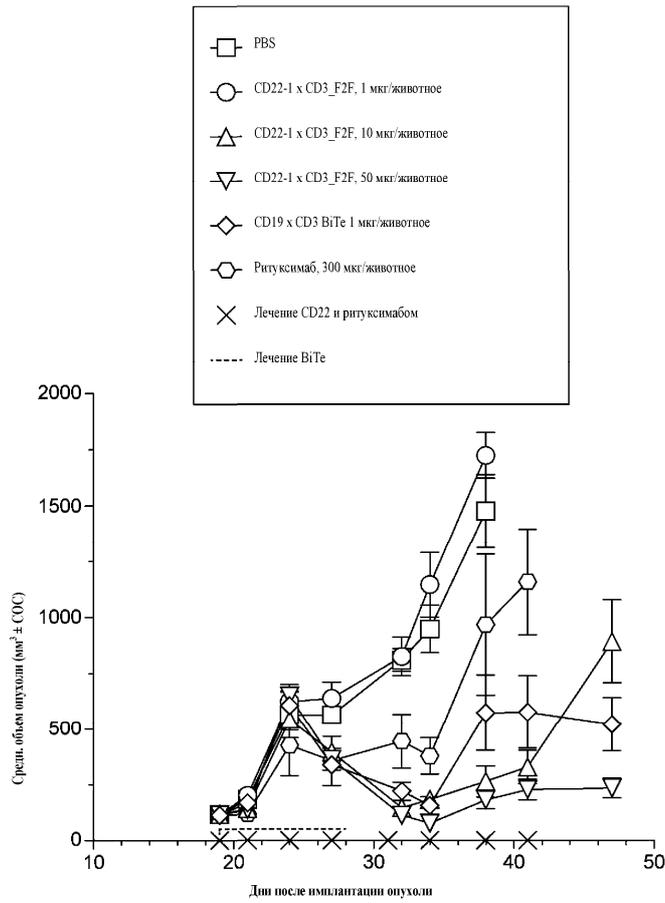
Фиг. 7



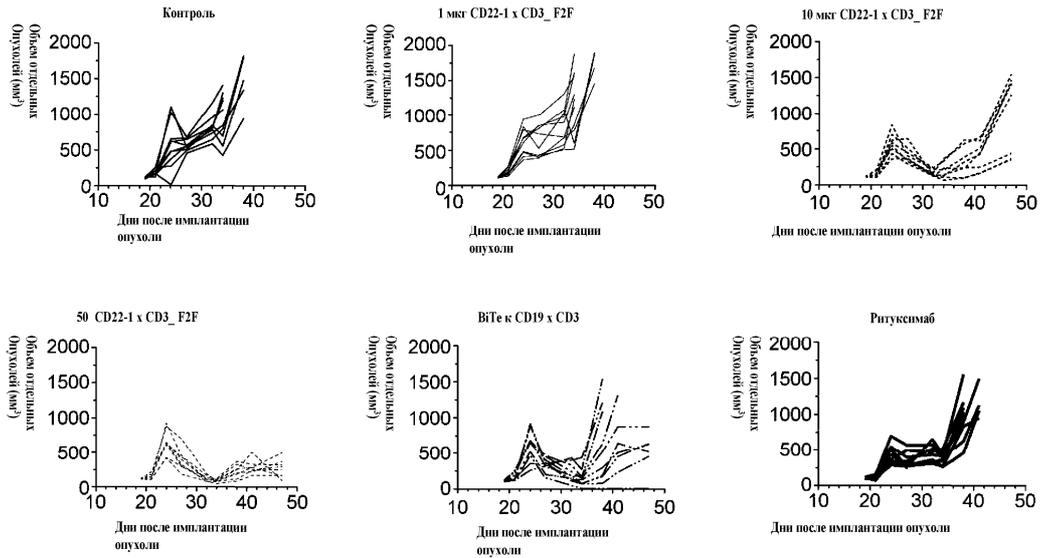
Фиг. 8



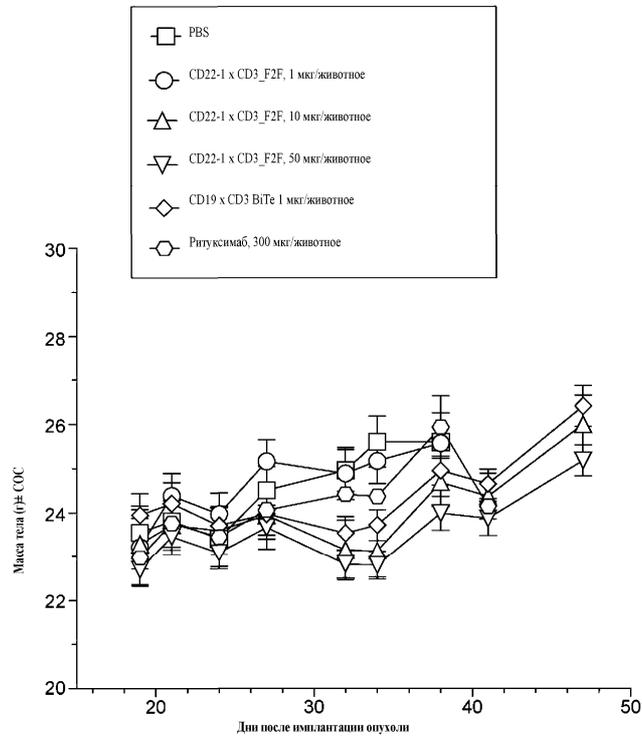
Фиг. 9



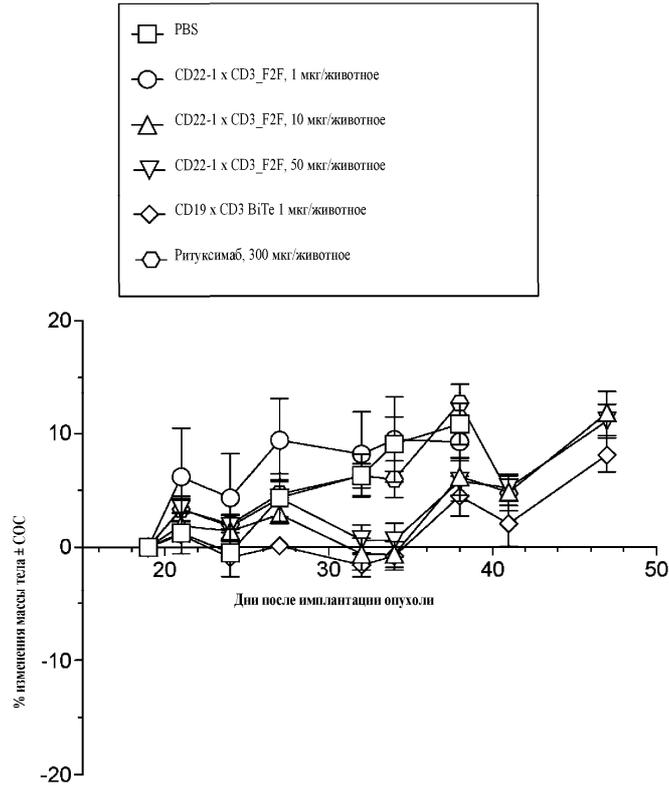
Фиг. 10



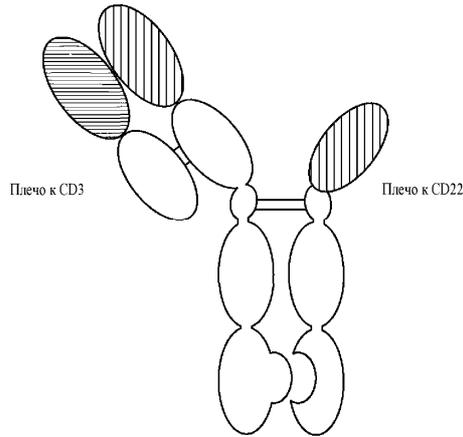
Фиг. 11



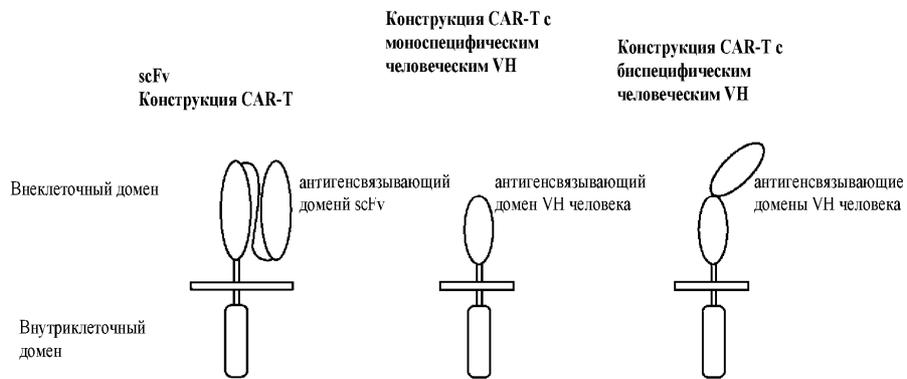
Фиг. 12



Фиг. 13

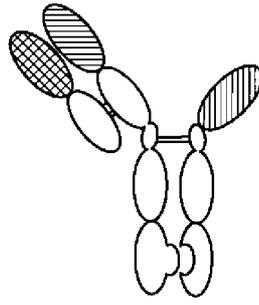


Фиг. 14А



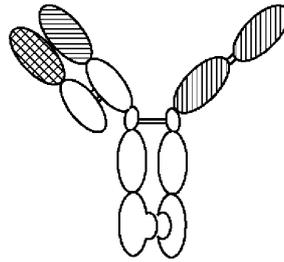
Фиг. 14В

048216



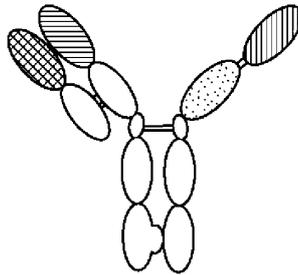
анти-CD3 х одновалентное,  
моноклональное анти-CD22

Фиг. 15А



анти-CD3 х двухвалентное, бипаратное  
анти-CD22

Фиг. 15В



анти-CD3 х двухвалентное,  
бипаратное анти-CD22

Фиг. 15С

## 048216

ID клона	KD (M)	Kd (1/c)	Связывание Daudi	CHO_сyCD22	CHO_сyOFFtgt
335161	2,66E-09	2,40E-04	811,0	208,0	5,2
335254	2,83E-09	2,45E-04	733,0	194,0	5,1
335260	3,17E-09	2,75E-04	725,0	185,0	5,1
335207	3,24E-09	2,94E-04	776,0	209,0	5,3
335151	3,77E-09	3,21 E-04	861,0	222,0	5,3
335170	6,50E-09	3,40E-04	791,0	181,0	5,3
335176	4,62E-09	3,79E-04	848,0	212,0	5,3
335181	9,44E-09	4,43E-04	809,0	234,0	5,4
335244	5,07E-09	4,45E-04	752,0	198,0	5,2
335154	5,41 E-09	4,46E-04	837,0	232,0	5,3
335201	5,19E-09	4,67E-04	761,0	199,0	5,5
335261	5,27E-09	5,10E-04	748,0	181,0	5,1
324510	6,42E-09	5,54E-04	690,0	172,0	5,2
335293	7,41E-09	5,57E-04	742,0	179,0	5,3
335203	6,80E-09	6,41E-04	729,0	194,0	5,3
335185	8,43E-09	6,47E-04	754,0	220,0	5,5
324317	8,48E-09	6,58E-04	709,0	173,0	5,2
335206	7,53E-09	6,90E-04	735,0	189,0	5,3
335245	7,44E-09	7,02E-04	742,0	192,0	5,4
335218	8,91E-09	7,05E-04	711,0	204,0	5,1
335160	8,51E-09	7,24E-04	750,0	218,0	5,2
335158	4,23E-08	8,01 E-41	883,0	193,0	5,4
324508	1,25E-08	8,28E-04	839,0	162,0	5,2
335307	1,03E-08	1,02E-03	737,0	176,0	5,0
335301	1,26E-08	1,29E-03	716,0	166,0	5,0
335323	1,41 E-08	1,30E-03	720,0	169,0	5,3
335271	2,16E-08	1,31E-03	711,0	147,0	5,2
335234	1,24E-08	1,37E-03	734,0	161,0	5,2
335182	2,24E-08	1,58E-03	750,0	192,0	5,3

ID клона	KD (M)	Kd (1/c)	Связывание Daudi	CHO_cyCD22	CHO_cyOFFtgt
335186	1,76E-08	1,72E-03	402,0	33,5	5,5
335233	1,90E-08	2,01E-03	697,0	166,0	5,3
335224	2,34E-08	2,07E-03	689,0	173,0	5,4
335210	6,25E-08	2,28E-03	735,0	159,0	5,2
335311	2,66E-09	2,77E-03	151,0	11,7	5,1
335159	1,61E-08	3,58E-03	532,0	61,7	5,4
335188	5,30E-08	4,12E-03	663,0	113,0	5,3
335274	2,36E-08	4,30E-03	414,0	26,0	5,1
335226	2,55E-08	4,37E-03	221,0	12,0	5,2
335333	2,24E-08	4,37E-03	372,0	21,2	5,0
335283	3,69E-08	4,57E-03	513,0	42,4	5,2
335297	2,88E-08	4,80E-03	107,0	12,3	5,2
335273	4,22E-08	4,87E-03	385,0	23,1	5,2
335187	1,28E-07	5,12E-03	531,0	60,7	6,0
335295	3,16E-08	5,21E-03	491,0	43,8	5,1
335220	4,82E-08	5,31E-03	322,0	18,4	5,4
335173	3,05E-08	5,43E-03	393,0	26,7	5,5
335219	9,06E-08	5,50E-03	590,0	76,2	5,2
335236	2,73E-08	5,62E-03	338,0	18,4	5,3
335266	3,85E-08	5,79E-03	411,0	29,2	5,1
335208	5,84E-08	5,93E-03	452,0	34,0	5,4
335195	1,50E-07	5,99E-03	420,0	33,0	5,4
335285	1,14E-07	6,07E-03	620,0	94,7	5,1
335150	1,41E-08	6,08E-03	86,3	8,8	5,2
335316	2,35E-08	6,62E-03	103,0	9,6	5,1
335189	3,60E-08	6,92E-03	410,0	28,6	5,3
335179	1,48E-07	8,91 E-03	88,8	10,5	5,5
335230	7,52E-08	8,92E-03	47,1	7,8	5,3
335166	3,30E-08	9,15E-03	422,0	35,5	5,2
335242	7,97E-08	9,30E-03	136,0	11,3	5,2
335162	9,96E-08	9,41E-03	23,3	9,1	5,2
ID № клона	KD (M)	Kd (1/c)	Связывание Daudi	CHO_cyCD22	CHO_cyOFFtgt
335171	8,45E-08	1,24E-02	471,0	39,0	5,4
335232	2,46E-08	1,83E-02	288,0	42,5	5,3
335263	2,58E-06	3,85E-02	30,0	8,2	5,2

Фиг. 16

