УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127308** (13) **C2**

(51) МПК (2023.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C07K 16/42 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)
A61K 39/00
A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ "УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **a 2018 10280**

(22) Дата подання заявки: **20.03.2017**

(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **20.07.2023**

(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **16161740.2, 62/433,327**

(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **22.03.2016, 13.12.2016**

(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **EP, US**

(41) Публікація відомостей про заявку: **25.04.2019, Бюл.№ 8**

(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **19.07.2023, Бюл.№ 29**

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору PCT: **PCT/EP2017/056556, 20.03.2017**

(72) Винахідник(и):
Брюнкер Петер (CH),
Кросдейл-Вуд Ребекка (GB),
Кляйн Крістіан (CH),
Шанцер Йюрген Міхаель (DE),
Штубенраух Кай-Гуннар (DE),
Умана Пабло (CH),
Гейгер Мартіна (CH),
Салліван Ерік (US),
Патель Джігар (US)

(73) Володілець (володільці):
Ф. ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ,
Grenzacherstrasse 124, 4070 Basel, Switzerland (CH)

(74) Представник:
Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2016/014974 A2, 28.01.2016
WO 2015/013671 A1, 29.01.2015
CARRENO M ET A. First step toward the murine idiotypic network generated by OKT3 // HUMAN IMMUNOLOGY, NEW YORK, NY, US. - 11.10.1991. - Vol. 32. - P. 12
WO 2015/001085 A1, 08.01.2015
EP 2982694 A1, 10.02.2016
WO 2015/048272 A1, 02.04.2015
WO 2014/151910 A1, 25.09.2014
WO 2014/144722 A2, 18.09.2014
WO 2016/079081 A1, 26.05.2016
WO 2014/004549 A2, 03.01.2014
US 2014/308285 A1, 16.10.2014
WO 2016/146894 A1, 22.09.2016
WO 2006/099141 A2, 21.09.2006
WO 2016/077505 A2, 19.05.2016

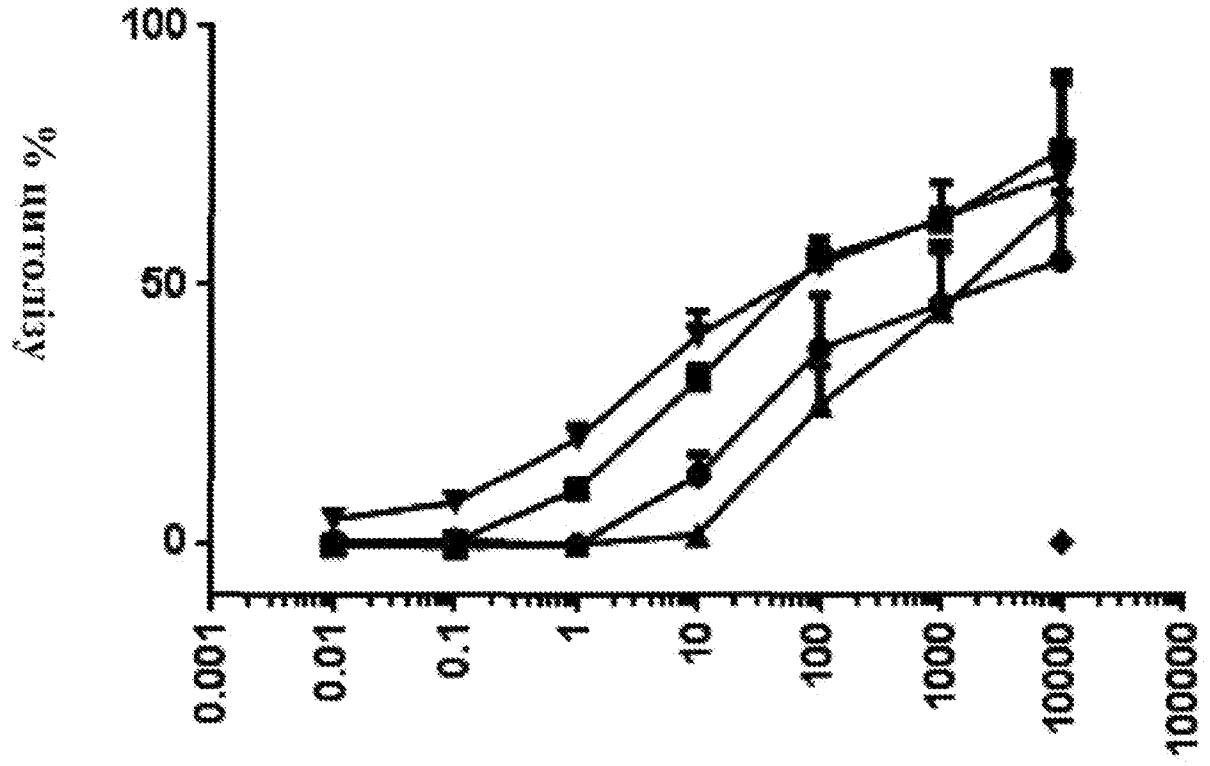
(54) АКТИВОВАНА ПРОТЕАЗОЮ БІСПЕЦИФІЧНА МОЛЕКУЛА, ЯКА ЗВ'ЯЗУЄ Т-КЛІТИНИ

(57) Реферат:

Винахід стосується активованої протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, та ідіотипспецифічного поліпептиду, і способу застосування вказаної активованої протеазою

UA 127308 C2

біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, та ідіотипспецифічного поліпептиду для лікування захворювання.



Фіг. 18А

Галузь техніки, до якої відноситься винахід

Даний винахід відноситься в цілому до нових активованих протеазою антигензв'язуючих молекул, які містять антиідіотипзв'язуючий фрагмент, що оборотно маскує зв'язування антигена молекулою. Зокрема, винахід відноситься до молекул, які зв'язують Т-клітини, що мають антиідіотипзв'язуючий фрагмент, що маскує CD3-зв'язуючий фрагмент до розщеплення протеазою. Це забезпечує недоступність або "маскування" CD3-зв'язуючого фрагмента до його наближення до тканини-мішені, такої як пухлина, наприклад, до Т-клітин, які інфільтрують пухлину. Крім того, даний винахід відноситься до полінуклеотидів, які кодують вказані активовані протеазою молекули, що зв'язують Т-клітини, та ідіотипспецифічні поліпептиди, і до векторів і клітин-хазяїнів, які містять вказані полінуклеотиди. Винахід відноситься також до способів одержання активованих протеазою молекул, які зв'язують Т-клітини, запропонованих у винаході, і до способів їх застосування, наприклад, для лікування захворювання.

Передумови створення винаходу

В різних клінічних ситуаціях часто потрібна вибіркова деструкція індивідуальної клітини-мішені або визначеного типу клітин-мішеней. Наприклад, основною задачею при терапії раку є руйнування саме пухлинних клітин із зберіганням при цьому в інтактному та непошкодженому стані здорових клітин і тканин.

Перспективним підходом для досягнення цієї мети є індукція імунної відповіді проти пухлини, при якій імунні ефекторні клітини, такі як природні клітини-кілери (NK) або цитотоксичні Т-лімфоцити (CTL), атакують і руйнують пухлинні клітини. В цьому плані в останні роки зріс інтерес до біспецифічних антитіл, сконструйованих таким чином, щоб вони зв'язувались за допомогою одного "плеча" з поверхневим антигеном на клітинах-мішенях, а за допомогою іншого "плеча" з активуючим інваріантним компонентом комплексу Т-клітинного рецептора (TCR). Одночасне зв'язування такого антитіла з обома його мішенями має посилювати тимчасову взаємодію між клітиною-мішенню і Т- клітиною, викликаючи активацію будь-якої цитотоксичної Т-клітини і подальший лізис клітини-мішені. Таким чином, імунна відповідь переорієнтується на клітини-мішені і не залежить від презентації пептидного антигена клітиною-мішенню або специфічності Т-клітини, що має місце при нормальній обмеженій за ГКГС активації CTL. В цьому контексті вирішальне значення має те, що CTL активуються тільки в умовах тісної близькості до клітини-мішені, тобто коли має місце імітація імунологічного синапсу. Найбільш переважними є біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, для яких не потрібне попереднє кондиціонування або костимуляція лімфоцитів для того, щоб викликати ефективний лізис клітин-мішеней. Розроблено декілька форматів біспецифічних антитіл і вивчена їх придатність для опосередкованої Т-клітинами імунотерапії. Вони включають молекули BiTE (bispecific T cell engager, біспецифічний активатор (провідник) Т-клітин) (Nagorsen і Bäuerle, Exp Cell Res 317, 2011, сс. 1255-1260), димерні антитіла (діаболи) (Holliger та ін., Prot Eng 9, 1996, сс. 299-305) та їх похідні, такі як тандемні діаболи (Kipriyanov та ін., J Mol Biol 293, 1999, сс. 41-66), молекули DART (dual affinity retargeting, переорієнтовані молекули з подвійною афінністю) (Moore та ін., Blood 117, 2011, сс. 4542-51) і triomabs® (трифункціональні антитіла) (Seimetz та ін., Cancer Treat Rev 36, 2010, сс. 458-467).

Задача створення біспецифічних молекул, придатних для лікування, ставить декілька технічних проблем, пов'язаних з вимогами до ефективності, токсичності, застосовуваності і технологічності, які вони повинні задовольняти. В тих випадках, коли мішенню біспецифічної молекули є антиген на клітині-мішені, наприклад, на раковій клітині, що експресується, також і в тканині, яка не є мішенню, може виникати токсичність. Таким чином, існує потреба в ефективних біспецифічних молекулах, що активують Т-клітини, які забезпечують повну активацію Т-клітин в присутності клітин-мішеней, але не в присутності здорових клітин або тканин.

Короткий виклад сутності винаходу

Винахід відноситься в цілому до біспецифічних молекул, що активують Т-клітини, які вибірково активуються в присутності клітини-мішені.

Одним з об'єктів винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(а) перший антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3;

(б) другий антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені; і

(в) маскуючий фрагмент, ковалентно приєднаний до біспецифічної молекули, що зв'язує Т-клітини, через розщеплюваний протеазою лінкер, де маскуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з ідіотипом першого або другого антигензв'язуючого фрагмента, тим самим оборотно приховуючи ("ховаючи") перший або другий антигензв'язуючий фрагмент.

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент активованої протеазою

біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, ковалентно приєднаний до першого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки важкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки легкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент являє собою антиідіотиповий scFv.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить другий маскуючий фрагмент, що оборотно приховує другий антигензв'язуючий фрагмент.

В одному з варіантів здійснення винаходу протеаза, що має здатність розщеплювати лінкер, розщеплений протеазою, експресується клітиною-мішенню.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій обмінені або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій обмінені константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою канонічну молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить не більше одного антигензв'язуючого фрагмента, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить третій антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язуючий фрагмент ідентичний другому антигензв'язуючому фрагменту. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язуючий фрагмент не ідентичний другому антигензв'язуючому фрагменту. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 або HER1. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, HER1 або мезотеліном. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, HER1, HER2 або мезотеліном.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший і другий антигензв'язуючі фрагменти злиті один з одним, необов'язково через пептидний лінкер. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента злиті один з одним, необов'язково через пептидний лінкер.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить додатково Fc-домен, який складається з першої і другої субодиниць, які мають здатність до стабільної асоціації. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен являє собою Fc-домен IgG, конкретно Fc-домен IgG_1 або IgG_4. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен являє собою людський Fc-домен. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен характеризується зниженою афінністю зв'язування з Fc-рецептором і/або зниженою ефекторною функцією порівняно з нативним Fc-доменом IgG_1. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить одну або декілька амінокислотну(их) заміну(н), яка(і) знижує(ють) зв'язування з Fc-рецептором і/або ефекторну функцію. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу одна або декілька амінокислотна(их) заміна(н) знаходиться(яться) в одному або декількох положеннях, вибраних з наступної групи: L234, L235 і P329 (нумерація за Кеботом). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу кожна субодиниця Fc-домену містить три амінокислотні заміни, які знижують зв'язування з активуючим Fc-рецептором і/або ефекторну функцію, де вказані амінокислотні заміни являють собою L234A, L235A і P329G. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою Fcγ-рецептор. В одному з варіантів здійснення винаходу ефекторна функція являє собою антитіло-обумовлену клітинозалежну цитотоксичність (ADCC). В одному з варіантів здійснення винаходу клітина-мішень являє собою людську клітину.

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку

важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22).

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(б) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(в) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22);

і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28).

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(б) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(в) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28);

і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер, розщеплений протеазою, містить принаймні одну розпізнавану протеазою послідовність. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність. В одному з варіантів здійснення винаходу розпізнавану протеазою послідовність вибирають з групи, що складається з:

(а) RQARVVNG (SEQ ID NO: 36);

(б) VHMPLGFLGPGRSRGSFP (SEQ ID NO: 37);

(в) RQARVVNGXXXXXVPLSLYSG (SEQ ID NO: 38); і

(г) RQARVVNGVPLSLYSG (SEQ ID NO: 39),

(д) plglwsq (SEQ ID NO: 40), де X позначає будь-яку амінокислоту.

В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність. В одному з варіантів здійснення винаходу розпізнавану протеазою послідовність вибирають з групи, що складається з:

(а) RQARVVNG (SEQ ID NO: 36);

(б) VHMPLGFLGPGRSRGSFP (SEQ ID NO: 37);

(в) RQARVVNGXXXXXVPLSLYSG (SEQ ID NO: 38);
(г) RQARVVNGVPLSLYSG (SEQ ID NO: 39);
(д) plglwsq (SEQ ID NO: 40);
(е) VHMPLGFLGPRQARVVNG (SEQ ID NO: 97);
(ж) FVGGTG (SEQ ID NO: 98);
(з) KKAAPVNG (SEQ ID NO: 99);
(і) PMAKKVNG (SEQ ID NO: 100);
(к) QARAKVNG (SEQ ID NO: 101);
(л) VHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 102);
(м) QARAK (SEQ ID NO: 103);
(н) VHMPLGFLGPPMAKK (SEQ ID NO: 104);
(о) KKAAP (SEQ ID NO: 105); і
(п) PMAKK (SEQ ID NO: 106), де X позначає будь-яку амінокислоту.

В одному з варіантів здійснення винаходу протеазу, яка має здатність розщеплювати лінкер, розщеплений протеазою, вибирають з групи, яка складається з металопротеїнази, наприклад, матричної металопротеїнази (MMP) 1-28 і "дезінтегрину і металопротеїнази" (A Disintegrin And Metalloproteinase (ADAM)) 2, 7-12, 15, 17-23, 28-30 і 33, серинової протеази, наприклад, активатора плазміногену урокіназного типу і матриптази, цистеїнової протеази, аспарагінової протеази і протеази катепсину. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу протеаза являє собою MMP9 або MMP2. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу протеаза являє собою матриптазу. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36).

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, перший антигензв'язуючий фрагмент містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, що вибраний з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, перший антигензв'язуючий фрагмент містить гіперваріабельні ділянки (CDR) важкого ланцюга, що мають SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і CDR легкого ланцюга, що мають SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, перший антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, перший антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152 і SEQ ID NO: 153, і принаймні одну

CDR легкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155 і SEQ ID NO: 156.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152 і SEQ ID NO: 153, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155 і SEQ ID NO: 156.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 158.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 158.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 114.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі,

що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга будь-якого з антитіл, описаних в WO/2006/082515, яка повністю включена в даний опис як посилання.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, який містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 32, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 33.

В одному з варіантів здійснення винаходу в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини, вказаній в даному описі, другий антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32, і легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, і другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, які мають здатність специфічно зв'язуватись з HER2, де другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 160, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 161, де третій антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 159, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 161.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) принаймні один важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(б) принаймні один легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;

(в) перший легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; і

(г) другий легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82;

(в) перший легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; і

(г) другий легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77;

(в) перший легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; і

(г) другий легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 136;

(в) перший легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; і

(г) другий легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 133.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, вказана в даному описі, містить

(а) перший важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 137;

(б) другий важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 139;

(в)перший легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; і

(г) другий легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 138.

Одним з об'єктів винаходу є ідіотипспецифічний поліпептид для оборотного приховування антигензв'язуючого сайта молекули антитіла до CD3. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид являє собою антиідіотиповий scFv. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно приєднаний до молекули через лінкер. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер являє собою пептидний лінкер. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер являє собою лінкер, розщеплений протеазою. В одному з варіантів здійснення винаходу пептидний лінкер містить принаймні один сайт, який розпізнається протеазою. В одному з варіантів здійснення винаходу протеазу вибирають з групи, яка складається з металопротеїнази, наприклад, матричної металопротеїнази (MMP) 1-28 і "дезінтегрину і металопротеїнази" (ADAM) 2, 7-12, 15, 17-23, 28-30 і 33, серинової протеази, наприклад, активатора плазміногену урокіназного типу і матриптази, цистеїнової протеази, аспарагінової протеази і протеази катепсину.

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу протеаза являє собою MMP9 або MMP2. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу протеаза являє собою матриптазу. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно

приєднаний до молекули через декілька лінкерів. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно приєднаний до молекули через два лінкера.

В одному з варіантів здійснення винаходу молекула, яка містить антигензв'язуючий сайт антитіла до CD3, являє собою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22).

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(б) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(в) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22);

і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28).

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(б) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(в) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28);

і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

Іншим об'єктом винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або його фрагмент. Винахід відноситься також до поліпептидів, які кодуються полінуклеотидуми, запропонованими у винаході. Винахід відноситься також до експресійного вектора, що містить виділений полінуклеотид, запропонований у винаході, і клітини-хазяїна, яка містить виділений полінуклеотид або експресійний вектор, запропонований у винаході. В деяких варіантах здійснення винаходу клітина-хазяїн являє собою еукаріотичну клітину, зокрема, клітину ссавця.

Іншим об'єктом винаходу є спосіб одержання активованою протеазою молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, що включає стадії а) культивування клітини-хазяїна, запропонованої у винаході, в умовах, придатних для експресії активованою протеазою

молекулою, що активує Т-клітини, і (б) виділення активованою протеазою молекули, що активує Т-клітини. Винахід відноситься також до активованої протеазою молекули, що активує Т-клітини, одержаної способом, запропонованим у винаході.

Іншим об'єктом винаходу є спосіб одержання ідіотипспецифічного поліпептиду, запропонованого у винаході, що включає стадії а) культивування клітини-хазяїна, запропонованої у винаході, в умовах, придатних для експресії активованою протеазою молекули, що активує Т-клітини, і (б) виділення ідіотипспецифічного поліпептиду. Винахід відноситься також до одержаного способом, запропонованим у винаході, ідіотипспецифічного поліпептиду.

Винахід відноситься також до фармацевтичної композиції, яка містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, і фармацевтично прийнятний носій.

Під обсяг винаходу підпадають також способи застосування активованої протеазою молекули, що активує Т-клітини, і фармацевтичної композиції, запропонованої у винаході. Одним з об'єктів винаходу є активована протеазою молекула, що активує Т-клітини, або фармацевтична композиція, запропонована у винаході, призначена для застосування як лікарський засіб. Одним з об'єктів винаходу є активована протеазою молекула, що активує Т-клітини або фармацевтична композиція, запропонована у винаході, призначена для застосування для лікування захворювання в індивідуума, що потребує цього. В конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання являє собою рак.

Запропоновано також застосування активованою протеазою молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, для приготування лікарського засобу, призначеного для лікування захворювання в індивідуума, що потребує цього; а також спосіб лікування захворювання в індивідуума, що включає введення зазначеному індивідууму в терапевтично ефективній кількості композиції, яка містить активовану протеазою молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, в фармацевтично прийнятній формі. В конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання являє собою рак. В будь-якому із вищевказаних варіантів здійснення винаходу індивідуум переважно є ссавцем, насамперед людиною.

У винаході запропонований також спосіб індукції лізису клітини-мішені, насамперед пухлинної клітини, що включає приведення в контакт клітини-мішені з активованою протеазою молекулою, що активує Т-клітини, запропонованою у винаході, в присутності Т-клітини, насамперед цитотоксичної Т-клітини.

Іншим об'єктом винаходу є також композиція, яка містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, вказану в даному описі, і фармацевтично прийнятний носій.

Іншим об'єктом винаходу є також композиція, що містить ідіотипспецифічний поліпептид, вказаний в даному описі, і фармацевтично прийнятний носій.

Іншим об'єктом винаходу є також активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, або ідіотипспецифічний поліпептид, вказані в даному описі, або композиція, вказана в даному описі, призначені для застосування як лікарський засіб. В одному з варіантів здійснення винаходу лікарський засіб призначений для лікування або уповільнення розвитку раку, лікування або уповільнення розвитку захворювання, пов'язаного з імунною системою, і/або підвищення або стимуляції імунної відповіді або функції в індивідуума.

Іншим об'єктом винаходу є також активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, або ідіотипспецифічний поліпептид, вказані в даному описі, призначені для лікування захворювання в індивідуума, що потребує цього. В одному з варіантів здійснення винаходу захворювання являє собою проліферативне порушення, насамперед рак.

Іншим об'єктом винаходу є також спосіб лікування захворювання в індивідуума, що включає введення зазначеному індивідууму в терапевтично ефективній кількості композиції, яка містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, або композицію, вказану в даному описі.

Іншим об'єктом винаходу є також спосіб індукції лізису клітини-мішені, що включає приведення до контакту клітини-мішені з активованою протеазою біспецифічною молекулою, що активує Т-клітини або композицією, вказаній в даному описі, в присутності Т-клітини. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб індукції лізису клітини-мішені являє собою спосіб in vitro. В одному з варіантів здійснення винаходу клітина-мішень являє собою ракову клітину. В одному з варіантів здійснення винаходу клітина-мішень експресує протеазу, що має здатність активувати активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини.

Іншим об'єктом винаходу є також антиідіотипове антитіло до CD3 або його антигензв'язуючий фрагмент, специфічні по відношенню до ідіотипу анти-CD3 антигензв'язуючої

молекули, де антиідіотипове антитіло до CD3 або його фрагмент при зв'язуванні з анти-CD3 антигензв'язуючою молекулою специфічно блокують зв'язування анти-CD3 антигензв'язуючої молекули з CD3.

В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотипове антитіло до CD3 або його антигензв'язуючий фрагмент оборотно асоційовані з анти-CD3 антигензв'язуючою молекулою через пептидний лінкер, що містить сайт, який розпізнається протеазою. В одному з варіантів здійснення винаходу CD3 являє собою мишачий, мавпячий або людський CD3.

Іншим об'єктом винаходу є спосіб знижчення токсичності in vivo біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, що включає приєднання ідіотипспецифічного поліпептиду, вказаного в даному описі, до біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, за допомогою розщеплюваного протеазою лінкера з утворенням активованої протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, де активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, має знижчену токсичність in vivo порівняно з біспецифічною молекулою, яка активує Т-клітини.

Короткий опис креслень

На кресленнях показано:

На фіг. 1А-Д - схематичне зображення різних зв'язуючих CD3 агентів з маскуючими фрагментами. На фіг. А1 - конструкція 7859: анти-ID (антиідіотиповий) CH2527 scFv 4.15.64, сайт, який розпізнається матриптазою MK062, CD3 Fc. На фіг. 1Б - конструкція 7860: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, сайт, який розпізнається матриптазою MK062, CD3 Fc. На фіг. 1В - конструкція 7857: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, нерозщеплюваний лінкер, CD3 Fc. На фіг. 1Г - конструкція: ID (ідентифікаційний номер) 7858 анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, CD3 Fc. На фіг. 1Д - конструкція 7861: одновалентне антитіло до CD3, Fc;

На фіг. 2 - таблиця, в якій узагальнені дані про афінність антиідіотипових маскуючих фрагментів до зв'язуючого CD3 агента (CH2527);

На фіг. 3А-Г - результати аналізу методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН молекул, представлених на фіг. 1А і Б. На фіг. 3А-Б - результати аналізу методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН молекули, представленої на фіг. 1А, в невідновлюючих (фіг. 3А) і відновлюючих (фіг. 3Б) умовах. Порівняння необробленої (I) і обробленої молекули (III) продемонструвало повне розщеплення анти-ID scFv після обробки рекомбінантної (rh) матриптазою/ST14 протягом 48 год. при 37 °С. Один зразок (II) не обробляли, але інкубували при 37 °С протягом 48 год. На фіг. 3В-Г - результати аналізу методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН молекули, представленої на фіг. 1Б, в невідновлюючих (фіг. 3В) і відновлюючих (фіг. 3Г) умовах. Порівняння необробленої (I) і обробленої молекули (III) продемонструвало повне розщеплення анти-ID scFv після обробки rh-матриптазою/ST14 протягом 48 год. при 37 °С. Один зразок (II) не обробляли, але інкубували при 37 °С протягом 48 год.;

На фіг. 4А-В - вплив антиідіотипічного маскування на зв'язування CD3. На фіг. 4А і В - результати репортерних аналізів з використанням Jurkat NFAT, які демонструють маскуючий ефект антиідіотипового специфічного по відношенню до CD3 scFv 4.15.64 (фіг. 4А) або антиідіотипового специфічного по відношенню до CD3 scFv 4.32.63 (фіг. 4Б). Одновалентні IgG до CD3 перехресно зшивали через антитіло до людського Fc-домену (нанесеного на планшет для аналізу) перед додаванням клітин Jurkat NFAT (репортерна клітинна лінія гострого лімфатичного лейкозу з промотором NFAT, що експресує людську CD3ε (ε-субодиницю людського CD3)). Репортерна клітинна лінія Jurkat-NFAT (фірма Promega) являє собою репортерну клітинну лінію людського гострого лімфатичного лейкозу з промотором NFAT, яка експресує людську CD3ε. Якщо CD3-зв'язуючий агент зв'язується з CD3ε, то відбувається експресія люциферази та її можна вимірювати за люмінесценцією після додавання субстрату One-Glo (фірма Promega). На фіг. 4В представлені результати порівняння величин EC_{50}, що характеризують зв'язування з CD3ε, для замаскованого і незамаскованого CD3-зв'язуючого агента;

На фіг. 5А-З - схематичне зображення різних біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, з маскуючими фрагментами. На фіг. 5А - конструкція 7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, сайт, який розпізнається матриптазою MK062, CD3 16D5 Fc. На фіг. 5Б - конструкція 7676: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, нерозщеплюваний лінкер, CD3 16D5 Fc. На фіг. 5В - конструкція 7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, сайт, який розпізнається матриптазою MK062, CD3 16D5 Fc. На фіг. 5Г - конструкція 7611: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, CD3 16D5 Fc. На фіг. 5Д - конструкція 6298: GA916-D-16D5-02 sf W(1). FolR1 16D5 класична TCB (біспецифічна молекула, що активує Т-клітини) в форматі 2+1 із загальним легким ланцюгом. На фіг. 5Е - конструкція 6100: GA916-D-16D5 sf W(3a). FolR1 16D5 інвертована TCB в форматі 2+1 із загальним легким ланцюгом. На фіг. 5Ж - конструкція ID 6182:

DP47GS TCB sf CHO W(9a). DP47 інвертована TCB в форматі 2+1. На фіг. 53 - конструкція 7494: анти-ID CH2527 Fab 4.15.64, сайт, який розпізнається матриптазою MK062, CD3 16D5 Fc;

На фіг. 6 - результати застосування для трансфекції першого співвідношення плазмід, одержані за допомогою гель-фільтрації (1("западина"): 1 ("виступ"): 3 (CLC) (загальний легкий ланцюг);

На фіг. 7 - результати застосування для трансфекції іншого співвідношення плазмід, одержані за допомогою гель-фільтрації (1("западина"): 2 ("виступ"): 3 (CLC);

На фіг. 8 - результати, одержані за допомогою аналізу методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН (КЕ-ДСН), TCB-молекули, представленої на фіг. 5А (ID 7344) (повністю очищений препарат): Смуга А = невідновлюючі умови, смуга Б = відновлюючі умови, смуга В = білковий стандарт;

На фіг. 9 - результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB-молекули, представленої на фіг. 5Б (ID 7676) (повністю очищений препарат): Смуга А = невідновлюючі умови, смуга Б = відновлюючі умови, смуга В = білковий стандарт;

На фіг. 10 - результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB-молекули, представленої на фіг. 5В (ID 7496) (повністю очищений препарат): Смуга А = невідновлюючі умови, смуга Б = відновлюючі умови, смуга В = білковий стандарт;

На фіг. 11 - результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB-молекули, представленої на фіг. 5Г (ID 7611) (повністю очищений препарат): Смуга А = невідновлюючі умови, смуга Б = відновлюючі умови, смуга В = білковий стандарт;

На фіг. 12А-Г - результати, одержані за допомогою аналізу методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН, молекул, представлених на фіг. 5А і В. На фіг. 12А і Б - результати, одержані за допомогою аналізу методом капілярного електрофорезу, молекул, представлених на фіг. 5А (ID 7344) анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, MK062, CD3 16D6 Fc, в невідновлюючих (фіг. 12А) і відновлюючих (фіг. 12Б) умовах. Порівняння необробленої (I) і обробленої (III) молекули продемонструвало повне розщеплення анти-ID scFv після обробки rh-матриптазою/ST14 протягом 48 год. при 37 °С. Один зразок (II) не обробляли, але інкубували при 37 °С протягом 48 год. Застосовували попереднє фарбування білковим маркером (IV) Mark 12 (фірма Invitrogen) для визначення правильної молекулярної маси. На фіг. 12В і Г - результати, одержані за допомогою аналізу методом капілярного електрофорезу, молекули, представленої на фіг. 5В (ID 7496) анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc, в невідновлюючих (фіг. 12В) і відновлюючих (фіг. 12Г) умовах. Порівняння необробленої (I) і обробленої (III) молекули продемонструвало повне розщеплення анти-ID scFv після обробки rh-матриптазою/ST14 протягом 48 год. при 37 °С. Один зразок (II) не обробляли, але інкубували при 37 °С протягом 48 год. Застосовували попереднє фарбування білковим маркером (IV) Mark 12 (фірма Invitrogen) для визначення правильної молекулярної маси;

На фіг. 13 - дані про рівень експресії FolR1, кількісно встановлені за допомогою набіру Qifikit (фірма Dako). антитіло до FolR1: № LS-C125620-100 (фірма LifeSpan BioSciences Inc); застосоване в концентрації 20 мкг/мл; мишачий IgG1-ізотип: № 554121 (фірма BD);

На фіг. 14А і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 14А - дані про цитоліз клітин Skov3, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 10нМ (TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 клонами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, попередньо оброблені очищеною rh-матриптазою/ST14) і людськими PBMC після інкубації протягом 48 год. (E:T=7:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °С. На фіг. 14Б продемонстрована активація Т-клітин з людських PBMC, індукована зв'язуванням активованою протеазою TCB в концентрації 10нМ (TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 фрагментами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблені молекули) на клітинах Skov3 після інкубації протягом 48 год. (E:T=7:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 15А і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 15А - дані про цитоліз клітин Mkn-45, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 100нМ (TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 клонами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблені молекули) і людськими PBMC після інкубації протягом 48 год. (E:T=7:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °С. На фіг. 15Б продемонстрована активація Т-клітин з людських PBMC, індукована зв'язуванням активованою протеазою TCB в концентрації 100нМ

(TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 фрагментами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблені молекули) на клітинах Mkn-45 після інкубації протягом 48 год. (E:T=7:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 16 - дані про цитоліз клітин HT29, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 10нМ (TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 клонами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблені молекули) і людськими PBMC після інкубації протягом 48 год. (E:T=7:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C. Стовпчиками зліва направо позначені наступні конструкції: 7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D6Fc; 7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D6Fc_оброблена; 7676: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 нерозщеплюваний лінкер CD3 16D6Fc; 7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc; 7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc_оброблена; 7611: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер CD3 16D6 Fc; 6298: GA916-D-16D5-02 sf W(1); 6182: DP47GS TCB sf CHO W(9a);

На фіг. 17 - дані про цитоліз клітин Skov3, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 10нМ (TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 клонами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблені молекули) і людськими PBMC (PBMC з іншого донора порівняно з тим, клітини якого використовували при отриманні результатів, представлених на фіг. 14A) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали за 24 год. при 37 °C. Стовпчиками зліва направо позначені наступні конструкції: 7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, MK062, CD3 16D6Fc; 7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, MK062, CD3 16D6Fc_оброблена; 7676: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 нерозщеплюваний лінкер CD3 16D6Fc; 7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc; 7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc_оброблена; 7611: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер CD3 16D6 Fc; 6298: GA916-D-16D5-02 sf W(1); 6182: DP47GS TCB sf CHO W(9a);

На фіг. 18A і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 18A - дані про цитоліз залежно від дози клітин HeLa, індукований активованими протеазою молекулами TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C. На фіг. 18Б - дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC, індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах HeLa після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 19A і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 19A - дані про цитоліз залежно від дози клітин HeLa, індукований активованими протеазою молекулами TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C. На фіг. 19Б - дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC, індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах HeLa після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 20A і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 20A - дані про цитоліз залежно від дози клітин Skov3, індукований активованими протеазою молекулами TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і

людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C. На фіг. 20Б - дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC, індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах Skov3 після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 21А і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 21А - дані про цитоліз залежно від дози клітин Skov3, індукований активованими протеазою молекулами TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C. На фіг. 21Б - дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC, індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах Skov3 після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 22А і Б - результати оцінки активації Т-клітин активованими протеазою TCB. На фіг. 22А - дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC (з донора, відмінного від донора, клітини якого використовували в описаних раніше експериментах), індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах HT29 після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин. На фіг. 22Б - дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC (з іншого донора порівняно з тим, клітини якого використовували при отриманні результатів, представлених на фіг. 16), індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах HT29 після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин.

На фіг. 23 -дані про активацію залежно від дози Т-клітин з людських PBMC (з донора, відмінного від донора, клітини якого використовували в описаних раніше експериментах), індукованою зв'язуванням активованою протеазою TCB (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним або нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) на клітинах HRCEpiC після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Маркери Т-клітинної активації являли собою CD25 (ліві панелі) і CD69 (праві панелі). Представлені дані для $CD4^+$- і $CD8^+$-Т-клітин;

На фіг. 24 - дані про цитоліз клітин Ovcar3, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 50нМ (TCB з різними маскуючими антиідіотиповими специфічними по відношенню до CD3 клонами, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблені молекули) і людськими PBMC після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 10 хв при 37 °C (неповне розщеплення);

На фіг. 25 - дані про цитоліз клітин Skov3, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 10нМ (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.15.64, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC з трьох інших донорів). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. 37 °C;

На фіг. 26 - дані про цитоліз клітин Skov3, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 10нМ (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год.

(E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC з трьох інших донорів). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C;

На фіг. 27 - дані про цитоліз клітин HeLa, індукований активованими протеазою молекулами TCB в концентрації 100пМ (TCB з маскуючим антиідіотиповим специфічним по відношенню до CD3 клоном 4.32.63, розщеплюваним і нерозщеплюваним лінкером, оброблена молекула) і людськими PBMC (виділеними з лейкоцитарної плівки) після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC з трьох інших донорів). Попередню обробку rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) здійснювали протягом 24 год. при 37 °C;

На фіг. 28 - схематичне зображення конструкції анти-ID GA201 scFv, сайт, який розпізнається матричної металопротеїназою, GA201 Fc (GA201-анти-GA201-scFv);

На фіг. 29 - схематичне зображення антитіла до HER1 GA201;

На фіг. 30А і Б - результати, одержані за допомогою аналізу методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН, для молекули, представленої на фіг. 28, в невідновлюючих (фіг. 30А) і відновлюючих умовах (фіг. 30Б). Молекулу, представлену на фіг. 28, очищували до гомогенного стану на білку А і за допомогою гель-фільтрації і піддавали аналізу методом капілярного електрофорезу-ДСН;

На фіг. 31 - результати FACS-аналізу зв'язування GA201-анти-GA201-scFv і GA201 з HER1, що експресується на клітинах H322M, для підтвердження маскуючого ефекту антиідіотипового GA201 scFv. GA201-анти-GA201-scFv інкубували протягом ночі з матриксною металопротеїназою MMP-2 і зв'язування з клітинами H322M порівнювали з нерозщепленою конструкцією GA201-анти-GA201-scFv, GA201 і антитілом, застосовуваним як контроль ізотипу IgG1. Зв'язування з HER1 на клітинах H322M виявляли, використовуючи як вторинне антитіло F(ab")2-фрагмент козячого антилюдського IgG, Fc-специфічного, кон'югованого з ФІТЦ, і аналізували з використанням FACS, застосовуючи пристрій BD FACS Canto II. Для аналізу використовували медіанну інтенсивність флуоресценції (MFI);

На фіг. 32 - результати, одержані методом поверхневого плазмонного резонансу, аналізу зв'язування HER1 із замаскованим і незамаскованим GA201 до і після розщеплення за допомогою MMP2;

На фіг. 33А-К - схематичне зображення різних біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, з маскуючими фрагментами. На фіг. 33А - конструкція ID 8364: 16D5 TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 сайт MMP9-матриптази MK062, злитий на N-кінці з CD3. На фіг. 33Б - конструкція: ID 8363. 16D5 TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, сайт катепсину S/B, злитий на N-кінці з CD3. На фіг. 33В - конструкція: ID 8365. 16D5 TCB, інвертований формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, сайт матриптази MK062, злитий на N-кінці із загальним легким ланцюгом. На фіг. 33Г - конструкція: ID 8366. 16D5 TCB, інвертований формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, злитий на N-кінці із загальним легким ланцюгом. На фіг. 33Д- конструкція: ID 8672. антитіло до мезотеліну RG7787 із зарядженими залишками TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 сайт MMP9-матриптази MK062, злитий на N-кінці з CD3 X Fab. На фіг. 33Е - конструкція ID 8673. антитіло з мезотеліну RG7787 з TCB із зарядженими залишками, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, злитий на N-кінці з CD3 X Fab. На фіг. 33Ж - конструкція: ID 8674. антитіло до мезотеліну RG7787 з TCB із зарядженими залишками, інвертований формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 сайт MMP9-матриптази MK062, злитий на N-кінці з CD3 XFab. На фіг. 333 - конструкція: 8675. антитіло до мезотеліну RG7787 з TCB із зарядженими залишками, інвертований формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, злитий на N-кінці з CD3 XFab. На фіг. 33І - конструкція: ID 8505. антитіло до мезотеліну RG7787 з TCB із зарядженими залишками CD3 XFab, інвертований формат. На фіг. 33К - конструкція: ID 8676. CD3 XFab антитіло до мезотеліну RG7787 з TCB із зарядженими залишками, класичний формат;

На фіг. 34 -результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB ID 8365 і TCB ID 8366 (повністю очищений препарат): смуга А = білковий стандарт, смуга Б = білок, що зберігався при 4 °C, смуга В = білок, попередньо оброблений rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems), смуга Г = білок, інкубований протягом 72 год. при 37 °C, і смуга Д = молекула 3;

На фіг. 35А і Б- результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB, представленої на фіг. 33А (ID 8364) і TCB, представленої на фіг. 33Б (ID 8363). На фіг. 35А - результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB 8364 (кінцевий очищений препарат): смуга А = білковий стандарт, смуга Б = білок, що зберігався при 4 °C, смуга В = білок, попередньо оброблений rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems), смуга Г = білок, інкубований протягом 72 год. при 37 °C, і смуга Д = конструкція з нерозщеплюваним лінкером. На фіг. 35Б - результати, одержані за допомогою аналізу методом КЕ-ДСН, TCB 8363 (повністю

очищений препарат): смуга А = білковий стандарт, смуга Б = білок, що зберігався при 4 °С, смуга В = білок, попередньо оброблений rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems), смуга Г = білок, інкубований протягом 72 год. при 37 °С, і смуга Д = конструкція з нерозщеплюваним лінкером;

На фіг.36А і Б - одержаний з використанням клітин Jurkat NFAT аналіз активації, в якому як клітини-мішені застосовували клітини HeLa і Skov-3. Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями. Стандартне відхилення позначено планками похибок. Репортерна клітинна лінія Jurkat-NFAT (фірма Promega) являє собою репортерну клітинну лінію людського гострого лімфатичного лейкозу з промотором NFAT, яка експресує людську CD3ε. Якщо CD3-зв'язуючий агент TCB TCB зв'язується з пухлиною-мішенню і CD3 (необхідне перехресне зшивання) зв'язується з CD3ε, то експресію люциферази можна вимірювати за люмінесценцією після додавання субстрату One-Glo (фірма Promega). Порівнювали FolR1-TCB (чорні трикутники зі спрямованою вниз вершиною) і попередньо оброблену протеазою активовану TCB (8364, зафарбовані сірими кольором квадрати), злиту на N-кінці з анти-ID CD3 4.32.63 scFv і із сайтом MMP9-матриптази MK062. Молекулу обробляли rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems) протягом приблизно 20 год. при 37 °С. Представлені також результати, одержані для замаскованої TCB (яка містить нерозщеплюваний лінкер GS, сірі трикутники зі спрямованою вгору вершиною) і "ненацілену" TCB, застосовувану як контроль (незафарбований трикутник зі спрямованою вниз вершиною). Пунктирною лінією позначена люмінесценція клітин-мішеней і ефекторних клітин за відсутності будь-якої TCB. На фіг. 36А - одержаний з використанням клітин Jurkat NFAT аналіз активації, в якому як клітини-мішені застосовували клітини HeLa. На фіг. 36Б - одержаний з використанням клітин Jurkat NFAT аналіз активації, в якому як клітини-мішені застосовували клітини Skov-3;

На фіг. 37А-Г - дані про цитотоксичність по відношенню до пухлинних клітин, обумовлену FolR1-TCB і людськими PBMC (співвідношення ефекторів: мішеней = 10:1). Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями. Стандартне відхилення позначено планками похибок. На фіг. 37А - дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней HeLa. Здійснювали порівняння двох різних форматів активованих протеазою TCB, обидва містили антиідіотиповий CD3 scFv, зчеплений з лінкером із сайтом, що розпізнається, матриптазою MK062. На фіг. 37Б - дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней Skov-3. Здійснювали порівняння двох різних форматів активованих протеазою TCB, обидва містили антиідіотиповий CD3 scFv, зчеплений з лінкером із сайтом, що розпізнається, матриптазою MK062. На фіг. 37В - дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней HeLa. Здійснювали порівняння класичної активованої протеази TCB, яка містить антиідіотиповий CD3 scFv і GS-лінкери з різними сайтами, що розпізнається, і протеазою. Порівнювали активовану протеазою TCB, що містить лінкер із сайтом MMP9-матриптази MK062 (8364, сірі квадрати), FolR1-TCB (світло-сірі трикутники зі спрямованою вниз вершиною), активовану протеазою TCB, що містить лінкер тільки із сайтом матриптази MK062 (світло-сірий ромб)/ сайтом катепсину (сірі кружечки) або нерозщеплюваний лінкер (чорні трикутники зі спрямованою вниз вершиною). На фіг. 37Г - дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней Skov-3. Здійснювали порівняння класичної активованої протеази TCB, яка містить антиідіотиповий CD3 scFv і GS-лінкери з різними сайтами, що розпізнається, і протеазою. Порівнювали активовану протеазою TCB, що містить лінкер із сайтом MMP9-матриптази MK062 (8364, сірі квадрати), FolR1-TCB (світло-сірі трикутники зі спрямованою вниз вершиною), активовану протеазою TCB, що містить лінкер тільки із сайтом матриптази MK062 (світло-сірий ромб)/сайтом катепсину (сірі кружечки) або нерозщеплюваний лінкер (чорні трикутники зі спрямованою вниз вершиною);

На фіг. 38А і Б - результати кількісної оцінки позитивних за CD69 CD8-клітин після спільної інкубації первинних епітеліальних клітин кіркової речовини нирок людини (фіг. 38А) або бронхіальних епітеліальних клітин людини (фіг. 38Б) з різними TCB в концентрації 200нМ і одержаними з трьох різних донорів людськими PBMC. Т-клітини забарвлювали після інкубації протягом 48 год. (E:T=10:1, ефекторні клітини являли собою людські PBMC). Представлена медіанна інтенсивність флуоресценції маркера Т-клітинної активації CD69 в популяції $CD8^+$-Т-клітин. Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями для PBMC з трьох різних донорів. Стандартне відхилення позначено планками похибок. Для статистичного аналізу використовували непарний t-критерій;

На фіг. 39А і Б - дані про цитотоксичність по відношенню до пухлинних клітин, обумовлену MSLN-(мезотелін)-TCB і людськими PBMC (співвідношення ефекторів: мішеней = 10:1). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. перед визначенням ЛДГ. Мінімальний лізис (=

0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB. Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями. Стандартне відхилення позначено планками похибок. На фіг. 39A - дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней NCI H596. активована протеазою MSLN-TCB містила антиідіотиповий CD3 scFv, зчеплений з лінкером із сайтом MMP9-матриптази MK062. Порівнювали активовану протеазою TCB (8672, світло-сірі кружечки), MSLN-TCB (темно-сірі трикутники зі спрямованою вниз вершиною) і активовану протеазою TCB, що містить нерозщеплюваний лінкер (8673, сірі трикутники зі спрямованою вгору вершиною). На фіг. 39Б - дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней AsPC-1. активована протеазою MSLN-TCB містила анти-ідіотиповий CD3 scFv, зчеплений з лінкером із сайтом MMP9-матриптази MK062. Порівнювали активовану протеазою TCB (8672, світло-сірі кружечки), MSLN-TCB (темно-сірі трикутники зі спрямованою вниз вершиною) і активовану протеазою TCB, що містить нерозщеплюваний лінкер (8673, сірі трикутники зі спрямованою вгору вершиною);

На фіг. 40 - одержаний з використанням клітин Jurkat NFAT аналіз активації, в якому застосовували зразки первинних пухлин і активовані протеазою FolR1-TCB. Репортерні клітини Jurkat NFAT активувались після спільної інкубації з FolR1-TCB (6298) і активованою протеазою FolR1-TCB, яка містить сайт розщеплення MMP9-матриптазою (8364). Активовані протеазою FolR1-TCB (8363, 8408) і контрольні TCB (8409, 7235) не індукували експресію люциферази. Пунктирною лінією позначена базисна лінія люмінесценції для клітин Jurkat NFAT, які спільно інкубували з пухлиною;

На фіг. 41A-B - одержані за допомогою капілярного електрофорезу дані для активованих протеазою TCB після інкубації в людській сироватці. Молекули інкубували протягом 0 або 14 днів у виснаженій за людським IgG сироватці при 37 °C у вологій камері (5 % CO_2). Всі молекули очищували за допомогою афінної хроматографії (білок A) і потім аналізували за допомогою капілярного електрофорезу. На фіг. 41A - результати КЕ-ДСН-аналізу сироватки для визначення FolR1-TCB (6298) в сироватці в день 0 і день 14. На фіг. 41Б - результати КЕ-ДСН-аналізу сироватки для визначення активованою протеазою FolR1-TCB з лінкером із сайтом MMP9-матриптази (8364) в сироватці в день 0 і день 14. На фіг. 41B - результати КЕ-ДСН-аналізу сироватки для визначення активованою протеазою FolR1-TCB з лінкером із сайтом матриптази (8408) в сироватці в день 0 і день 14 і попередньо розщепленої молекули в сироватці;

На фіг. 42A-E - схематичне зображення різних біспецифічних молекул, які активують T-клітини, з маскуючими фрагментами. На фіг. 42A - конструкція: ID 8955. Herceptarg-TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, лінкер з MK062-MMP9, злитий на N-кінці з VH. На фіг. 2Б - конструкція: ID 8957. Herceptarg-TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, злитий на N-кінці з VH. На фіг. 42B - конструкція: ID 8959. Herceptarg-TCB, класичний формат. На фіг. 42Г - конструкція: ID 8997. FolR1 36F2-TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, лінкер з MK062 MMP9, злитий на N-кінці з VH. На фіг. 42Д - конструкція: ID 8998. FolR1 36F2-TCB, класичний формат, анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, злитий на N-кінці з VH. На фіг. 42E - конструкція: ID 8996. FolR1 36F2-TCB, класичний формат;

На фіг. 43 - дані про токсичність по відношенню до бронхіальних епітеліальних клітин людини, опосередковану людськими PBMC і TCB в концентрації 100 або 10нМ. Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. перед визначенням ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB. Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями. Стандартне відхилення позначено планками похибок;

На фіг. 44 - дані про цитотоксичність по відношенню до негативних за FolR1 клітин-мішеней (Mkn-45), опосередковану FolR1-TCB в концентрації 100нМ і людськими PBMC. Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. перед визначенням ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB. Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями. Стандартне відхилення позначено планками похибок.

Детальний опис винаходу

Визначення

Поняття, застосовувані в даному описі, мають значення, загальноприйняті в даній галузі, якщо спеціально не вказане інше.

В контексті даного опису поняття "антигензв'язуюча молекула" в найбільш широкому сенсі

відноситься до молекули, яка специфічно зв'язується з антигенною детермінантою. Прикладами антигензв'язуючих молекул є імуноглобуліни та їх похідні, наприклад, їх фрагменти.

Поняття "біспецифічна" означає, що антигензв'язуюча молекула має здатність специфічно зв'язуватись принаймні з двома різними антигенними детермінантами. Як правило, біспецифічна антигензв'язуюча молекула містить два антигензв'язуючих сайта, кожний з яких є специфічним по відношенню до різних антигенних детермінант. В деяких варіантах здійснення винаходу біспецифічна антигензв'язуюча молекула має здатність одночасно зв'язуватись з двома антигенними детермінантами, насамперед з двома антигенними детермінантами, які експресуються на двох різних клітинах.

В контексті даного опису поняття "валентність" означає наявність певної кількості антигензв'язуючих сайтів в антигензв'язуючій молекулі. Так, поняття "одновалентне зв'язування з антигеном" означає наявність одного (і не більше одного) специфічного по відношенню до антигена антигензв'язуючого сайта в антигензв'язуючій молекулі.

Поняття "антигензв'язуючий сайт" відноситься до сайта, тобто одного або декількох амінокислотних залишків антигензв'язуючої молекули, які забезпечують взаємодію з антигеном. Наприклад, антигензв'язуючий сайт антитіла містить амінокислотні залишки з гіперваріабельних ділянок (які визначають комплементарність ділянок) (CDR). Нативна молекула імуноглобуліну має, як правило, два антигензв'язуючих сайта, молекула Fab, як правило, має один антигензв'язуючий сайт.

В контексті даного опису поняття "антигензв'язуючий фрагмент" відноситься до поліпептидної молекули, яка специфічно зв'язується з антигенною детермінантою. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент має здатність направляти субстанцію, до якої він приєднаний (наприклад, другий антигензв'язуючий фрагмент), до сайта-мішені, наприклад, до специфічного типу пухлинної клітини або строми пухлини, що несе антигенну детермінанту. В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент має здатність активувати передачу сигналів через його антиген-мішень, наприклад, антиген комплексу Т-клітинного рецептора. антигензв'язуючі фрагменти включають антитіла та їх фрагменти, додатково описані нижче. Конкретні антигензв'язуючі фрагменти включають антигензв'язуючий домен антитіла, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга антитіла і варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла. В деяких варіантах здійснення винаходу антигензв'язуючі фрагменти можуть включати константні ділянки антитіла, що додатково описано нижче і відомо в даній галузі. Придатні константні ділянки важких ланцюгів включають будь-які з п'яти ізотипів: α, δ, ε, γ або μ. Придатні константні ділянки легких ланцюгів включають будь-які з двох ізотипів: κ і λ.

В контексті даного опису поняття "антигенна детермінанта" є синонімом понять "антиген" і "епітоп" і відноситься до сайта (наприклад, ділянки, що складається із суміжних амінокислот, або конформаційної конфігурації, що складається з різних ділянок несуміжних амінокислот) на поліпептидній макромолекулі, з якою зв'язується антигензв'язуючий фрагмент з утворенням комплексу антигензв'язуючий фрагмент-антиген. Придатні антигенні детермінанти можуть бути присутніми, наприклад, на поверхні пухлинних клітин, на поверхні інфікованих вірусом клітин, на поверхні інших хворих клітин, на поверхні імунних клітин, клітин, які знаходяться у вільному стані в сироватці крові і/або у позаклітинному матриксі (ECM). В контексті даного опису білки, які відносяться до антигенів (наприклад, FolR1, HER1, HER2, CD3, мезотелін), якщо не вказано інше, можуть являти собою будь-які нативні форми білків з будь-якої хребетної тварини, запо відношенню дої як джерело, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, люди) і гризуни (наприклад, миші та щури). В конкретному варіанті здійснення винаходу антиген являє собою людський білок. В контексті даного опису при посиланні на конкретний білок мається на увазі "повнорозмірний", непроцесований білок, а також будь-яка форма білка, одержана в результаті процесінгу в клітині. Під поняття підпадають також варіанти білка, що зустрічаються в природних умовах, наприклад, сплайсингові варіанти або алельні варіанти. Прикладами людськими білків, придатних як антигенів, є (але, не обмежуючись тільки ними): FolR1, HER1 і CD3, насамперед епсилон-субодиниця CD3 (див. UniProt № P07766 (версія 130), NCBI RefSeq № NP_000724.1, SEQ ID NO: 54, людська послідовність; або UniProt № Q95LI5 (версія 49), NCBI GenBank, № BAB71849.1, послідовність мавп ціномолгус [Macaca fascicularis]). В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна антигензв'язуюча молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, зв'язується з епітопом CD3 або антигеном клітини-мішені, що є консервативним для CD3 або антигена-мішені з різних видів. В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна антигензв'язуюча молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, зв'язується з CD3 і FolR1, але не зв'язується з FolR2 або FolR3. В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна

антигензв'язуюча молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, зв'язується з CD3 і HER1. В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна антигензв'язуюча молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, зв'язується з CD3 і мезотеліном. В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна антигензв'язуюча молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, зв'язується з CD3 і HER2.

Поняття "специфічно зв'язується" означає, що зв'язування є вибірковим по відношенню до антигена і його можна відрізняти від небажаних або неспецифічних взаимодій. Здатність антигензв'язуючого фрагмента зв'язуватись зі специфічною антигенною детермінантою, можна визначати за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) або інших методик, відомих спеціалісту в даній галузі, наприклад, за допомогою методики на основі поверхневого плазмонного резонансу (здійснюючи аналіз за допомогою пристрою BIAcore) (Liljeblad та ін., Glyco J 17, 2000, сс. 323-329), і традиційних аналізів зв'язування (Heeley, Endocr Res 28, 2002, сс. 217-229). В одному з варіантів здійснення винаходу рівень зв'язування антигензв'язуючого фрагмента з неспорідненим білком складає менше ніж приблизно 10 % від рівня зв'язування антигензв'язуючого фрагмента з антигеном при вимірюванні, наприклад, за допомогою SPR. В деяких варіантах здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, що зв'язується з антигеном, або антигензв'язуюча молекула, що містить антигензв'язуючий фрагмент, характеризується величиною константи дисоціації (K_D), що складає ≤ 1мкМ, ≤ 100нМ, ≤ 10нМ, ≤ 1нМ, ≤ 0,1нМ, ≤ 0,01нМ або ≤ 0,001нМ (наприклад, 10^{-8}М або менше, наприклад, від 10^{-8}М до 10^{-13}М, наприклад, від 10^{-9}М до 10^{-13}М).

Поняття "афінність" відноситься до сумарної сили всіх нековалентних взаємодій між індивідуальним сайтом зв'язування молекули (наприклад, рецептора) та її партнера із зв'язування (наприклад, ліганда). Якщо не вказано інше, то в контексті даного опису поняття "афінність зв'язування" відноситься до властивої компонентам пари, що зв'язується, (наприклад, антигензв'язуючому фрагменту і антигена або рецептору і ліганду) афінності зв'язування, що відбиває взаємодію за типом 1:1. Афінність молекули X до її партнера Y можна, як правило, характеризувати за допомогою константи дисоціації (K_D), яка являє собою відношення констант швидкості реакції дисоціації і асоціації (k_{off} і k_{on} відповідно). Так, еквівалентні афінності можуть відповідати різним константам швидкості, якщо співвідношення констант швидкості залишається таким же. Афінність можна оцінювати загальноприйнятими методами, відомими в даній галузі, включаючи представлені в даному описі методи. Конкретним методом вимірювання афінності є метод поверхневого плазмонного резонансу (SPR).

Поняття "знижене зв'язування (знижена здатність до зв'язування)", наприклад, знижена здатність до зв'язування з Fc-рецептором, відноситься до зниження афінності по відношенню до відповідної взаємодії, вимірюваної, наприклад, за допомогою SPR. Для ясності слід зазначити, що поняття включає також зниження афінності до нуля (або нижче межі виявлення аналітичного методу), тобто повну елімінацію взаємодії. І, навпаки, "підвищене зв'язування (підвищена здатність до зв'язування)" відноситься до підвищення афінності зв'язування по відношенню до відповідної взаємодії.

Поняття "Т-клітинна активація (активація Т-клітин)" в контексті даного опису відноситься до однієї або декількох клітинних відповідей Т-лімфоцита, зокрема, цитотоксичного Т-лімфоцита, вибраним з: проліферації, диференціювання, секреції цитокінів, вивільнення цитотоксичних ефекторних молекул, цитотоксичної активності і експресії маркерів активації. Активовані протеазою біспецифічні антигензв'язуючі молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, мають здатність індукувати Т-клітинну активацію. Прийнятні аналізи оцінки Т-клітинної активації, відомі в даній галузі, представлені в даному описі.

Поняття "антиген клітини-мішені" в контексті даного опису відноситься до антигенної детермінанти, присутньої на поверхні клітини-мішені, наприклад, клітини в пухлині, такої як ракова клітина або клітина строми пухлини.

В контексті даного опису поняття "перший" і "другий" по відношенню до антигензв'язуючих фрагментів і т.д. застосовують з метою зручності розрізнення, коли є присутнім більше одного типу кожного з фрагментів. Застосування цих понять не припускає їх конкретний порядок або орієнтацію в активованій протеазою біспецифічній антигензв'язуючій молекулі, що активує Т-клітини, якщо спеціально не вказане інше.

Поняття "молекула Fab" відноситься до білка, що складається з VH і CH1-домену важкого ланцюга ("важкий ланцюг Fab") і VL і CL-домену легкого ланцюга ("легкий ланцюг Fab") імуноглобуліну.

Під поняттям "злиті" мається на увазі, що компоненти (наприклад, молекула Fab і

субодиниця Fc-домену) з'єднані пептидними зв'язками, або безпосередньо, або за допомогою одного або декількох пептидних лінкерів.

В контексті даного опису поняття "одноланцюгова" відноситься до молекули, яка містить амінокислотні мономери, зв'язані лінійно за допомогою пептидних зв'язків. В деяких варіантах здійснення винаходу один з антигензв'язуючих фрагментів являє собою одноланцюжкову молекулу Fab, тобто молекулу Fab, в якій легкий ланцюг Fab і важкий ланцюг Fab з'єднані за допомогою пептидного лінкера з утворенням одного пептидного ланцюга. У конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу в одноланцюговій молекулі Fab С-кінець легкого ланцюга Fab з'єднаний з N-кінцем важкого ланцюга Fab.

Під кросовер-молекулою Fab (яку позначають також як "CrossFab") мається на увазі молекула Fab, в якій або варіабельні ділянки, або константні ділянки важкого і легкого ланцюга Fab обмінені одна на одну, тобто кросовер-молекула Fab містить пептидний ланцюг, що складається з варіабельної ділянки легкого ланцюга і константною ділянки важкого ланцюга, і пептидний ланцюг, що складається з варіабельної ділянки важкого ланцюга і константною ділянки легкого ланцюга. Для простоти розуміння, слід зазначити, що в кросовер-молекулі Fab, в якій обмінені варіабельні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab, пептидний ланцюг, що містить константну ділянку важкого ланцюга, позначають в контексті даного опису як "важкий ланцюг" кросовер-молекули Fab. І, навпаки, в кросовер-молекулі Fab, в якій обмінені константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab, пептидний ланцюг, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, позначають в контексті даного опису як "важкий ланцюг" кросовер-молекули Fab.

На відміну від цього, поняття "канонічна" молекула Fab позначає молекулу Fab в її форматі, що зустрічається в природних умовах, тобто що містить важкий ланцюг, яка складається з варіабельної і константної ділянок важкого ланцюга (VH-CH1), і легкий ланцюг, яка складається з варіабельної і константної ділянок легкого ланцюга (VL-CL).

Поняття "молекула імуноглобуліну" відноситься до білка, що має структуру антитіла, що зустрічається в природних умовах. Наприклад, імуноглобуліни класу IgG являють собою гетеротетрамірні глікопротеїни з молекулярною масою приблизно 150000 Да, що складаються з двох легких ланцюгів і двох важких ланцюгів, зв'язаних дисульфідними містками. В напрямку від N-кінця до С-кінця кожний важкий ланцюг містить варіабельну ділянку (VH), яку називають також варіабельним важким доменом або варіабельним доменом важкого ланцюга, за яким розташовані три константні домени (CH1, CH2 і CH3), які називають також константною ділянкою важкого ланцюга. Аналогічно цьому, в напрямку від N- кінця до С-кінця кожна легкий ланцюг містить варіабельну ділянку (VL), яку називають також варіабельним легким доменом або варіабельним доменом легкого ланцюга, за яким розташований константний домен легкого ланцюга (CL), що називають також константною ділянкою легкого ланцюга. Важкий ланцюг імуноглобуліну може відноситись до одного з п'яти типів, позначених як α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG) або μ (IgM), деякі з яких додатково підрозділяють на підтипи, наприклад, γ_1 (IgG_1), γ_2 (IgG_2), γ_3 (IgG_3), γ_4 (IgG_4), α_1 (IgA_1) і α_2 (IgA_2). Легкий ланцюг імуноглобуліну може відноситись до одного з двох типів, позначених як каппа (κ) і лямбда (λ), на основі амінокислотної послідовності її константного домену. Імуноглобулін, як правило, складається з двох молекул Fab і Fc-домену, які з'єднані через шарнірну ділянку імуноглобуліну.

В контексті даного опису поняття "антитіло" використовується в його найбільш широкому сенсі, і воно відноситься до різних структур антитіл, включаючи (але, не обмежуючись тільки ними) моноклональні антитіла, поліклональні антитіла і фрагменти антитіл, за умови, що вони мають потрібну антигензв'язуючу активність.

Поняття "фрагмент антитіла" відноситься до молекули, відмінної від інтактного антитіла, яка містить частину інтактного антитіла, яка має здатність зв'язуватись з антигеном, з яким зв'язується інтактне антитіло. Прикладами фрагментів антитіл є (але, не обмежуючись тільки ними) Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, димерні антитіла (діаболи), лінійні антитіла, одноланцюгові молекули антитіл (наприклад, scFv) і однодоменні антитіла. Огляд деяких фрагментів антитіл див., наприклад, у Hudson та ін., Nat Med 9, 2003, сс. 129-134. Огляд scFv-фрагментів див., наприклад, у Plückthun в: The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, т. 113, під ред. Rosenburg і Moore, вид-во Springer-Verlag, New York, 1994, сс. 269-315; див. також WO 93/16185; і US №№ 5571894 і 5587458. Обговорення Fab- і $F(ab')_2$-фрагментів, які містять залишки епітопу, що зв'язується з рецептором рятування, і мають подовженим часом напівжиття in vivo, див. в US № 5869046. Димерні антитіла являють собою фрагменти антитіл з двома антигензв'язуючими сайтами, які можуть бути двовалентними або біспецифічними (див., наприклад, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson та ін., Nat Med 9, 2003, сс. 129-134; і Hollinger та ін., Proc Natl Acad Sci USA 90, 1993, сс. 6444-6448. Тримерні (тріаболі) і тетрамерні (тетраболі) антитіла описані також у

Hudson та ін., Nat Med 9, 2003, сс. 129-134. Однодоменні антитіла являють собою фрагменти антитіл, що містять весь варіабельний домен важкого ланцюга або його частину або весь варіабельний домен легкого ланцюга антитіла або його частину. В деяких варіантах здійснення винаходу однодоменне антитіло являє собою людське однодоменне антитіло (фірма Domantis, Inc., Валтам, шт. Массачусетс; див., наприклад, US № 6248516 B1). Фрагменти антитіл можна створювати за допомогою різних методик, включаючи (але, не обмежуючись тільки ними) протеолітичне розщеплення інтактного антитіла, а також одержувати з використанням рекомбінантних клітин-хазяїнів (наприклад, E. coli або фага), як зазначено в даному описі.

Поняття "антигензв'язуючий домен" відноситься до частини антитіла, яка містить ділянку, що специфічно звязується і є комплементарною частиною антигена або повного антигена. Антигензв'язуючий домен може являти собою, наприклад, один або декілька варіабельних доменів антитіла (які називають також варіабельними ділянками антитіла). Переважно антигензв'язуючий домен містить варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL) антитіла і варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH) антитіла.

Поняття "варіабельна ділянка" або "варіабельний домен" відноситься до домену важкого або легкого ланцюга антитіла, що бере участь у зв'язуванні антитіла з антигеном. Варіабельні домени важкого ланцюга і легкого ланцюга (VH і VL відповідно) нативного антитіла, як правило, мають подібні структури, при цьому кожний домен містить чотири консервативні каркасні ділянки (FR) і три гіперваріабельні ділянки (HVR) (див., наприклад, Kindt та ін., Kuby Immunology, 6-е вид., вид-во W.H. Freeman and Co., 2007, с. 91). Одного VH- або VL-домену може бути достатньо для забезпечення специфічності зв'язування антигена.

Поняття "гіперваріабельна ділянка" або "HVR" в контексті даного опису відноситься до кожної з ділянок варіабельного домену антитіла, послідовності яких є гіперваріабельними, і/або які утворюють структури у вигляді петель ("гіперваріабельні петлі"). Як правило, нативні чотириланцюгові антитіла містять шість HVR; три в VH (H1, H2, H3) і три в VL (L1, L2, L3). HVR, як правило, містять амінокислотні залишки з гіперваріабельних петель і/або з "ділянок, які визначають комплементарність" (CDR), останні відрізняються найбільш вираженою варіабельністю послідовності і/або беруть участь в розпізнаванні антигенів. За винятком CDR1 в VH, CDR, як правило, містять амінокислотні залишки з гіперваріабельних петель. Гіперваріабельні ділянки (HVR) часто позначають як "ділянки, що визначають комплементарність" (CDR), і ці поняття в контексті даного опису використовують взаємозамінно, і вони відносяться до ділянок варіабельної ділянки, які утворюють антигензв'язуючі ділянки. Ця конкретна ділянка описана у Kabat та ін., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 1983 і у Chothia та ін., J. Mol. Biol. 196, 1987, сс. 901-917, причому ці визначення відносяться до амінокислотних залишок, що перекриваються, або піднаборів амінокислотних залишків при їх порівнянні один з одним. Проте в контексті даного опису мається на увазі можливість застосування будь-якого визначення CDR антитіла або його варіантів. Відповідні амінокислотні залишки, з яких складаються CDR, як вони визначені в кожній з процитованих вище посилань, представлені в порівнянні нижче в таблиці 1. Точні номера залишків, які утворюють конкретний CDR, повинні варіюватись залежно від послідовності і розміру CDR. Спеціалісти в даній галузі на основі дані про амінокислотну послідовність варіабельної ділянки антитіла легко можуть визначати, які залишки входять в конкретний CDR.

Таблиця 1

Визначення CDR[1]

	Кебот	Хотіа	AbM[2]
V_H CDR1	31-35	26-32	26-35
V_H CDR2	50-65	52-58	50-58
V_H CDR3	95-102	95-102	95-102
V_L CDR1	24-34	26-32	24-32
V_L CDR2	50-56	50-52	50-56
V_L CDR3	89-97	91-96	89-97

[1] Нумерація всіх залишків, які входять в CDR в таблиці 1 дана відповідно до номенклатури, запропонованої Кеботом із співавторами (див. нижче).

[2] Позначення "AbM" з великої літери "b", використане в таблиці 1, відноситься до CDR, як вони визначені програмою для моделювання антитіл "AbM" компанії Oxford Molecular Group.

Кебот з співавторами запропонували також систему нумерації (номенклатуру) послідовностей варіабельних ділянок, яку можна застосовувати для будь-якого антитіла. Звичайний спеціаліст в даній галузі може однозначно застосовувати цю систему "нумерації за Кеботом" до будь-якої послідовності варіабельної ділянки, не маючи жодних експериментальних даних, крім відомостей про саму послідовності. В контексті даного опису поняття "нумерація за Кеботом" відноситься до системи нумерації, описаній у Kabat та ін., "Sequence of Proteins of Immunological Interest", вид-во U.S. Dept. of Health and Human Services, 1983. Якщо не вказано інше, то посилання на нумерацію положень конкретних амінокислотних залишків в варіабельній ділянці антитіла дані відповідно до системи нумерації за Кеботом.

Нумерація поліпептидних послідовностей в "Переліку послідовностей" не являє собою нумерацію відповідно до системи Кебота. Проте в компетенції звичайного спеціаліста в даній галузі є перетворення нумерації послідовностей в "Переліку послідовностей" на нумерацію за Кеботом.

"Каркасні ділянки" або "FR"-ділянки являють собою ділянки варіабельних доменів, відмінні від залишків гіперваріабельних ділянок (HVR). FR варіабельного домену, як правило, представлені чотирма FR-доменами: FR1, FR2, FR3 і FR4. Таким чином, послідовності HVR і FR, як правило, розташовані в VH (або VL) в наступному порядку: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

Поняття "клас" антитіла або імуноглобуліну відноситься до типу константного домену або константною ділянки, який входить/яка входить у важкий ланцюг. Існує п'ять основних класів антитіл: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, а деякі з них можна додатково підрозділяти на підкласи (ізотипи), наприклад, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 і IgA_2. Константні домени важких ланцюгів, відповідні різним класам імуноглобулінів, позначають як α, δ, ε, γ і μ відповідно.

В контексті даного опису поняття "Fc-домен" або "Fc-ділянка" відноситься до С-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, яка містить принаймні частину константною ділянки. Поняття відноситься до нативної послідовності Fc-ділянок і варіантів Fc-ділянок. Хоча пограничні послідовності Fc-ділянки в важкому ланцюзі IgG можуть злегка варіюватись, як правило, Fc-ділянка важкого ланцюга людського IgG простягається від Cys226 або від Pro230 до карбоксильного кінця важкого ланцюга. Проте С-кінцевий лізин (Lys447) Fc-ділянки може або бути присутніми, або відсутніми. Якщо спеціально не вказане інше, то нумерація амінокислотних залишків в Fc-ділянці або константній ділянці відповідає системі EU-нумерації, яку називають також EU-індексом, описаній в Kabat та ін., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е вид., вид-во Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

Поняття "субодиниця" Fc-домену в контексті даного опису відноситься до одного з двох поліпептидів, які утворюють димерний Fc-домен, тобто до поліпептиду, що містить С-кінцеві константні ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, які мають здатність до стабільної самоасоціації. Наприклад, субодиниця Fc-домену IgG містить константний домен CH2 IgG і CH3 IgG.

"Модифікація, що посилює асоціацію першої і другої субодиниць Fc-домену" являє собою маніпуляцію з пептидним каркасом або пост-трансляційні модифікації субодиниці Fc-домену, які зменшують або перешкоджають асоціації поліпептиду, що містить субодиницю Fc-домену, з ідентичним поліпептидом з утворенням гомодимеру. В контексті даного опису модифікація, що посилює асоціацію, включає, насамперед, різноманітні модифікації, здійснювані з кожною з двох субодиниць Fc-домену, призначених для асоціації (наприклад, першої і другої субодиниць Fc-домену), при цьому, модифікації доповнюють одна одну таким чином, щоб посилювати асоціацію двох субодиниць Fc-домену. Наприклад, модифікація, що посилює асоціацію, може змінювати структуру або заряд однієї або обох субодиниць Fc-домену таким чином, щоб покращувати їх асоціацію стерично або електростатично відповідно. Так, (гетеро)димеризація має місце між поліпептидом, що містить першу субодиницю Fc-домену, і поліпептидом, що містить другу субодиницю Fc-домену, які можуть бути неідентичними, оскільки додаткові компоненти, злиті з кожною з субодиниць (наприклад, антигензв'язуючі фрагменти), не є одинаковими. В деяких варіантах здійснення винаходу модифікація, що посилює асоціацію, являє собою амінокислотну мутацію в Fc-домені, зокрема, амінокислотну заміну. В конкретному варіанті здійснення винаходу модифікація, що посилює асоціацію, являє собою індивідуальну амінокислотну мутацію, зокрема, амінокислотну заміну, в кожній з двох субодиниць Fc-домену.

Поняття "ефекторні функції", що використовується в даному описі, відноситься до видів біологічної активності, властивих Fc-ділянкам антитіла, які варіюються залежно від ізотипу антитіла. Прикладами ефекторних функцій антитіла є: здатність зв'язуватись з C1q і комплементзалежна цитотоксичність (CDC), здатність зв'язуватись з Fc-рецептором, антитіло-

обумовлена клітиннозалежна цитотоксичність (ADCC), антитіло-обумовлений клітиннозалежний фагоцитоз (ADCP), секреція цитокінів, опосередковане імунним комплексом поглинання антигена антигенпрезентуючими клітинами, знижувальна регуляція рецепторів клітинної поверхні (наприклад, В-клітинного рецептора); і активація В-клітин.

В контексті даного опису мається на увазі, що поняття "конструювання, сконструйований, інженерія" включають будь-яку маніпуляцію з пептидним каркасом або пост-трансляційні модифікації поліпетиду, який зустрічається в природніх умовах, або рекомбінантного поліпептиду або його фрагмента. Інженерія включає модифікації амінокислотної послідовності, схеми глікозилювання або групи бічних ланцюгів індивідуальних амінокислот, а також комбінації зазначених підходів.

В контексті даного опису мається на увазі, що поняття "амінокислотна мутація" відноситься до амінокислотних замін, делеціям, інсерціям і модифікаціям. Можна застосовувати будь-яку комбінацію заміни, делеції, инсерції і модифікації для створення кінцевої конструкції за умови, що кінцева конструкція має необхідні характеристики, наприклад, знижену здатність зв'язуватись з Fc-рецептором або підвищеною асоціацією з іншим пептидом. Амінокислотна послідовність з делеціями і інсерціями включає аміно- і/або карбоксикінцеві делеції і інсерції амінокислот. Конкретними амінокислотними мутаціями є амінокислотні заміни. Для зміни, наприклад, характеристик зв'язування Fc-ділянки, найбільш переважними є неконсервативні амінокислотні заміни, тобто заміна однієї амінокислоти на іншу амінокислоту, що має інші структурні і/або хімічні властивості. Амінокислотні заміни включають заміну на амінокислоти, що не зустрічаються в природних умовах, або на похідні двадцати стандартних амінокислот, які зустрічаються в природніх умовах (наприклад, на 4-гідроксипролін, 3-метилгістидин, орнітин, гомосерин, 5-гідроксилізин). Амінокислотні мутації можна створювати за допомогою генетичних або хімічних методів, добре відомих в даній галузі. генетичні методи можуть включати сайтнаправлений мутагенез, ПЛР, синтез генів і т.п. Мається на увазі, що можна застосовувати також методи зміни бічної групи амінокислоти, відмінні від методів генетичної інженерії, такі як хімічна модифікація. Для позначення однієї і тієї ж амінокислотної мутації можна використовувати різноманітні позначення. Наприклад, заміну проліну в положенні 329 Fc-домену на гліцин можна позначати як 329G, G329, G_{329}, P329G або Pro329Gly.

В контексті даного опису поняття "поліпептид" відноситься до молекулі, що складається з мономерів (амінокислот), лінійно зв'язаних амідними зв'язками (які позначають також як пептидні зв'язки). Поняття "поліпептид" відноситься до будь-якого ланцюга, що складається з двох або більшої кількості амінокислот, і не припускає, що продукт має конкретну довжину. Так, пептиди, дипептиди, трипептиди, оіигопептиди, "білок", "амінокислотний ланцюг" або будь-яке інше прийняте поняття, що відноситься до ланцюга, що складається з двох або більшої кількості амінокислот, всі підпадають під визначення "поліпептид", і поняття "поліпептид" можна застосовувати замість або взаємозамінно з будь-яким із вказаних понять. Мається на увазі також, що поняття "поліпептид" відноситься до продуктів, які несуть пост-експресійні модифікації поліпептиду, включаючи (але, не обмежуючись тільки ними) глікозування, ацетилювання, фосфорилювання, амідування, дериватизацію з використанням відомих захисних/блокуючих груп, протеолітичне розщеплення або модифікацію за допомогою амінокислот, які не зустрічаються в природніх умовах. Поліпептид можна одержувати з біологічного джерела, що зустрічається в природніх умовах, або можна одержувати за допомогою технології рекомбінантної ДНК, і його не обов'язково транслювати з утвореної нуклеотидної послідовності. Його можна створювати будь-яким шляхом, включаючи хімічний синтез. Поліпептид, запропонований у винаході, може складатись приблизно з 3 або більше, 5 або більше, 10 або більше, 20 або більше, 25 або більше, 50 або більше, 75 або більше, 100 або більше, 200 або більше, 500 або більше, 1000 або більше або 2000 або більше амінокислот. Поліпептиди можуть мати різну тримірну структуру, хоча вони необов'язково повинні мати вказану структуру. Поліпептиди з визначеною тримірною структурою позначають як поліпептиди, що мають укладку, а поліпептиди, які не мають визначену тримірну структуру, але які можуть легше адаптуватись до великої кількості різних конформацій, позначають як поліпептиди, що не мають укладку.

Під "виділеним" поліпептидом або його варіантом, або похідним мають на увазі поліпептид, що не знаходиться в його природному середовищі. При цьому не потрібна наявність будь-або конкретного рівня очистки. Наприклад, виділений поліпептид можна видаляти з його нативного або природнього середовища. Одержані шляхом рекомбінації поліпептиди і білки, експресовані в клітинах-хазяїнах, розглядаються як виділені для цілей даного винаходу, якщо вони являють собою нативні або рекомбінантні поліпептиди, які відділені, фракціоновані або частково або повністю очищені за допомогою будь-якого прийнятного методу.

"Процент (%) ідентичності амінокислотної послідовності" по відношенню до поліпептидної референс-послідовності визначають як процент амінокислотних залишків в послідовності-кандидаті, які ідентичні амінокислотним залишкам в поліпептидній референс-послідовності, після вирівнювання послідовностей та інтродукції за необхідності проломів для досягнення максимального процента ідентичності послідовностей, і при цьому які-або консервативні заміни не враховуються при оцінці ідентичності послідовностей. порівняльний аналіз для визначення процента ідентичності амінокислотних послідовностей можна здійснювати різними шляхами, які знаходяться в компетенції спеціаліста в даній галузі, наприклад, з використанням публічно доступних комп'ютерних програм, таких як програма BLAST, BLAST-2, ALIGN або Megalign (DNASTAR). Спеціалісти в даній ділянки можуть визначати відповідні параметри для вирівнювання послідовностей, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання по всій довжині порівнюваних послідовностей. Проте для цілей даного винаходу величину % ідентичності амінокислотних послідовностей одержують з використанням призначеної для порівняння послідовностей комп'ютерної програми ALIGN-2. Призначена для порівняння послідовностей комп'ютерна програма ALIGN-2 розроблена фірмою Genentech, Inc., і вихідний код поміщений на зберігання разом з документацією для користувача в U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559, де він зареєстрований під реєстраційним номером U.S. Copyright Registration, № TXU510087. Програма ALIGN-2 являє собою публічно доступну програму фірми Genentech, Inc., Південний Сан-Франциско, шт. Каліфорнія, або її можна компілювати з вихідного коду. Програму ALIGN-2 можна компілювати для застосування в операційній системі UNIX, включаючи цифрову версію UNIX V4.0D. В програмі ALIGN-2 всі параметри для порівняння послідовностей є заданими і не повинні змінюватись. В ситуаціях, коли ALIGN-2 застосовують для порівняння амінокислотних послідовностей, % ідентичності амінокислотних послідовностей даної амінокислотної послідовності А по відношенню до або порівняно з даною амінокислотною послідовністю Б (яку іншими словами можна позначати як дана амінокислотна послідовність А, яка має або відрізняється визначеним % ідентичності амінокислотної послідовності по відношенню до або порівняно з даною амінокислотною послідовністю Б), розраховують наступним чином:

100×частка X/Y,

де X позначає кількість амінокислотних залишків, оцінених програмою порівняльного аналізу послідовностей ALIGN-2 як ідентичні співпадіння при порівняльному аналізі послідовностей А і Б за допомогою вказаної програми, і де Y позначає загальну кількість амінокислотних залишків в Б. Має бути очевидним, що, коли довжина амінокислотної послідовності А не дорівнює довжині амінокислотної послідовності Б, то % ідентичності амінокислотної послідовності А по відношенню до амінокислотної послідовності Б не має дорівнювати % ідентичності амінокислотної послідовності Б по відношенню до амінокислотної послідовності А. Якщо спеціально не вказане інше, то в контексті даного опису всі величини % ідентичності амінокислотних послідовностей отримують відповідно до процедури, описаній в останньому з попередніх параграфів, за допомогою комп'ютерної програми ALIGN-2.

Поняття "полінуклеотид" відноситься до виділеної молекули нуклеїнової кислоти або конструкції, наприклад, матричної РНК (мРНК), РНК вірусного походження або плазмідною ДНК (пДНК). Полінуклеотид може містити звичайний фосфодиефірний зв'язок або нетрадиційний зв'язок (наприклад, амідний зв'язок, такий, що є присутнім в пептидних нуклеїнових кислотах (ПНК)). Поняття "молекула нуклеїнової кислоти" відноситься до будь-якого одного або декількох сегментів нуклеїнової кислоти, наприклад, фрагментів ДНК або РНК, присутніх в полінуклеотиді.

Під "виділеною" молекулою нуклеїнової кислоти або полінуклеотидом мається на увазі молекула нуклеїнової кислоти, тобто ДНК або РНК, яка відділена від її нативного середовища. Наприклад, рекомбінантний полінуклеотид, який кодує поліпептид, що входить в вектор, розглядається як виділений для цілей даного винаходу. Іншими прикладами виділеного полінуклеотиду є рекомбінантні полінуклеотиди, присутні в гетерологічних клітинах-хазяїнах, або очищені (частково або повністю) полінуклеотиди, що знаходяться в розчині. Виділений полінуклеотид включає молекулу полінуклеотиду, що входить в клітини, які в нормі містять молекулу полінуклеотиду, але молекула полінуклеотиду є присутнім поза хромосоми або має локалізацію в хромосомі, відмінну від її локалізації в хромосомі в природнихумовах. Виділені молекули РНК включають одержані in vivo або in vitro РНК-транскрипти, запропоновані в даному винаході, а також форми з позитивним і негативним ланцюгом і дволанцюгові форми. Виділені полінуклеотиди або нуклеїнові кислоти, запропоновані в даному винаході, включають також вказані молекули, одержані за допомогою синтезу. Крім того, полінуклеотид або нуклеїнова кислота може являти собою або може включати регуляторний елемент, Такий як промотор, сайт зв'язування рибосом або термінатор транскрипції.

Під нуклеїнової кислотою або полінуклеотидом, яка має/який має нуклеотидну послідовність, що, наприклад, на 95 % "ідентична" нуклеотидній референс-послідовності, запропонованій в даному винаході, мається на увазі, що нуклеотидна послідовність полінуклеотиду ідентична референс-послідовності за винятком того, що полінуклеотидна послідовність може включати аж до 5 точкових мутацій на кожні 100 нуклеотидів нуклеотидної референс-послідовності. Інакше кажучи, для одержання полінуклеотиду, що має нуклеотидну послідовність, яка ідентична принаймні на 95 % нуклеотидній референс-послідовності, аж до 5 % нуклеотидів в референс-послідовності можна вилучати шляхом делеції або замінювати на інший нуклеотид, або аж до 5 % нуклеотидів від загальної кількості нуклеотидів в референс-послідовності можна вбудовувати в референс-послідовність. Ці зміни референс-послідовності можуть мати місце в положеннях на 5'- або 3'-кінці нуклеотидної референс-послідовності або в іншому положенні між цими кінцевими положеннями, та їх вбудовують або індивідуально між залишками в референс-послідовності, або їх вбудовують в референс-послідовність у вигляді однієї або декількох суміжних груп. На практиці вирішення питання про те, чи ідентична конкретна полінуклеотидна послідовність принаймні на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % нуклеотидній послідовності, запропонованої в даному винаході, можна вирішувати, як правило, з використанням відомих комп'ютерних програм, наприклад, вищевказаних для поліпептидів (наприклад, ALIGN-2).

Поняття "касета експресії" відноситься до полінуклеотиду, одержаному за допомогою рекомбінації або синтезу, що містить серії специфічних нуклеотидних елементів, які забезпечують транскрипцію конкретної нуклеїнової кислоти в клітині-мішені. Рекомбінантну касету експресії можна вбудовувати в плазміду, хромосому, мітохондріальну ДНК, пластидну ДНК, вірус або фрагмент нуклеїнової кислоти. Як правило, рекомбінантна касета експресії, що являє собою частину експресійного вектора, включає серед інших послідовностей нуклеотидну послідовність, що підлягає транскрипції, і промотор. В деяких варіантах здійснення винаходу касета експресії, запропонована у винаході, містить полінуклеотидні послідовності, які кодують біспецифічні антигензв'язуючі молекули, запропоновані у винаході, або їх фрагменти.

Поняття "вектор" або "експресійний вектор" є синонімом поняття "експресійна конструкція" і відноситься до молекули ДНК, яку застосовують для інтродукції і забезпечення експресії конкретного гену, з якою він функціонально зв'язаний в клітині-мішені. Поняття включає вектор, що являє собою структуру нуклеїнової кислоти, що самореплікується, а також вектор, вбудований в геном клітини-хазяїна, в яку він інтродукований. Експресійний вектор, запропонований в даному винаході, містить касету експресії. Експресійні вектори дозволяють здійснювати транскрипцію стабільної мРНК у великих кількостях. Коли експресійний вектор знаходиться всередині клітини-мішені, то молекула рибонуклеїнової кислоти або білок, що кодується геном, продукується в результаті клітинного механізму транскрипції і/або трансляції. В одному з варіантів здійснення винаходу експресійний вектор, запропонований у винаході, містить касету експресії, яка включає полінуклеотидні послідовності, які кодують біспецифічні антигензв'язуючі молекули, запропоновані у винаході, або їх фрагменти.

В контексті даного опису поняття "клітина-хазяїн", "лінія клітин-хазяїнів" і "культура клітин-хазяїнів" використовуються взаємозамінно, і вони відносяться до клітин, в які інтродукована екзогенна нуклеїнова кислота, включаючи потомство вказаних клітин. До клітин-хазяїнів відносяться "трансформанти" і "трансформовані клітини", які включають первинні трансформовані клітини, а також потомство, виведене з них, незалежно від кількості пересівів. Потомство може не бути строго ідентичним батьківській клітині за складом нуклеїнових кислот, а може нести мутації. Під дане поняття підпадає мутантне потомство, яке має таку ж функцію або біологічну активність, що і відібрана шляхом скринінгу або селекції вихідна трансформована клітина. Клітина-хазяїн являє собою будь-який тип клітинної системи, яку можна застосовувати для створення біспецифічних антигензв'язуючих молекул, запропонованих в даному винаході. Клітини-хазяїни включають культивовані клітини, наприклад, культивовані клітини ссавців, такі як (але, не обмежуючись тільки ними) CHO-клітини, BHK-клітини, NS0-клітини, SP2/0-клітини, клітини мієломи лінії YO, клітини мишачої мієломи лінії P3×63, PER-клітини, PER.C6-клітини або клітини гібридоми, клітини дріжджів, клітини комах і клітини рослин, але також клітини, що знаходяться в трансгенній тварині, трансгенній рослині або в культивованій рослинній або тваринній тканині.

"Активуючий Fc-рецептор" являє собою Fc-рецептор, що після взаємодії з Fc-доменом антитіла здійснює процес передачі сигналів, які стимулюють клітину, що несе рецептор, здійснювати ефекторні функції. Людські активуючі Fc-рецептори включають FcγRIIIa (CD16a), FcγRI (CD64), FcγRIIa (CD32) і FcαRI (CD89).

Антитіло-обумовлена клітиннозалежна цитотоксичність (ADCC) являє собою імунний

механізм, що призводить до лізису сенсибілізованих антитілом клітин-мішеней імунними ефекторними клітинами. Клітини-мішені являють собою клітини, з якими антитіла або їх похідні, що містять Fc-ділянку, специфічно зв'язуються, як правило, через ділянку білка, яка є N-кінцевою по відношенню до Fc-ділянки. В контексті даного опису поняття "знижена ADCC" відноситься або до зниження кількості лізованих в даний момент часу клітин-мішеней при даній концентрації антитіла в середовищі, яке оточує клітини-мішені, шляхом вказаного вище механізму ADCC, і/або до підвищення концентрації антитіла в середовищі, що оточує клітини-мішені, необхідної для досягнення лізису даної кількості клітин-мішеней в даний час за допомогою механізму ADCC. Зниження ADCC-активності визначають по відношенню до ADCC, опосередковану таким же антитілом, яке одержане за допомогою Такого же типу клітин-хазяїнів з використанням однакових стандартних методів одержання, очистки, приготування композицій і зберігання (які відомі спеціалістам в даній галузі), але яке не піддавали інженерії. Наприклад, зниження ADCC, опосередковане антитілом, що містить в його Fc-домені амінокислотну заміну, яка знижує ADCC, визначають по відношенню до ADCC, опосередковану таким же антитілом без вказаної амінокислотної заміни в Fc-домені. Прийнятні аналізи оцінки ADCC добре відомі в даній галузі (див., наприклад, публікацію PCT WO 2006/082515 або публікацію PCT WO 2012/130831).

Поняття "ефективна кількість" агента відноситься до кількості, необхідної для забезпечення фізіологічної зміни в клітині або тканині, в яку його вводять.

Поняття "терапевтично ефективна кількість" агента, наприклад, фармацевтичної композиції, відноситься до кількості, ефективній при застосуванні в дозах і протягом періодів часу, необхідних для досягнення потрібного терапевтичного або профілактичного результата. Терапевтично ефективна кількість агента, наприклад, елімінує, знижує, уповільнює, мінімізує або попереджає небажані явища захворювання.

"Індивідуум" або "суб'єкт" є ссавцем. Ссавці є (але, не обмежуючись тільки ними) одомашненими тваринами (наприклад, коровами, вівцями, кішками, собаками і конями), приматами (наприклад, людьми і приматами крім людини, такими як мавпи), кроликами і гризунами (наприклад, миші і щури). Переважно індивідуум або суб'єкт являє собою людини.

Поняття "фармацевтична композиція" відноситься до препарату, що знаходиться в такій формі, що він забезпечує біологічну активність діючої речовини, що входить до його складу, яка повинна мати ефективність, і що не містить додаткових компонентів, які мають неприйнятну токсичність для індивідуума, якому слід вводити композицію.

"Фармацевтично прийнятний носій" відноситься до інгредієнта в фармацевтичній композиції, відмінному від діючої речовини, що є нетоксичним для індивідуума. Фармацевтично прийнятні носії включають (але, не обмежуючись тільки ними) буфер, ексципієнт, стабілізатор або консервант.

В контексті даного опису поняття "лікування" (і його граматичні варіації, такі як "лікувати" або "процес лікування") відноситься до клінічного втручання з метою зміни природного перебігу захворювання в індивідуума, що підлягає лікуванню, і його можна здійснювати або для профілактики або в процесі розвитку клінічної патології. Необхідними діями лікування є (але, не обмежуючись тільки ними) попередження появи або рецидиву захворювання, полегшення симптомів, зменшення будь-яких прямих або непрямих патологічних наслідків захворювання, попередження метастазів, зниження швидкості розвитку захворювання, полегшення або тимчасове ослаблення хворобливого стану і ремісія або покращення прогнозу. В деяких варіантах здійснення винаходу активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, застосовують для затримки розвитку захворювання або уповільнення прогресування захворювання.

Поняття "листівка-вкладиш в упаковку" в контексті даного опису відноситься до інструкцій, які звичайно поміщають в упаковки терапевтичних продуктів, які надходять у продаж і містять інформацію про показання, застосування, дозу, шляхи введення, комбіновану терапію, протипоказаннях і/або запобіжні заходи при застосуванні вказаних терапевтичних продуктів.

Поняття "ідіотипспецифічний поліпептид" В контексті даного опису відноситься до поліпептиду, що розпізнає ідіотип антигензв'язуючого фрагмента, наприклад, антигензв'язуючого фрагмента, специфічного по відношенню до CD3. Ідіотипспецифічний поліпептид має здатність специфічно зв'язуватись з варіабельною ділянкою антигензв'язуючого фрагмента і тим самим знижує або попереджає специфічне зв'язування антигензв'язуючого фрагмента з його когнатним антигеном. При асоціації з молекулою, яка містить антигензв'язуючий фрагмент, ідіотипспецифічний поліпептид може функціонувати як маскуючий фрагмент молекули. В даному описі представлені конкретно антиідіотипові антитіла або фрагменти антиідіотипзв'язуючого антитіла, специфічного по відношенню до ідіотипу анти-CD3-

зв'язуючих молекул.

Поняття "протеаза" або "протеолітичний фермент" В контексті даного опису відноситься до будь-якого протеолітичного ферменту, що розщеплює лінкер в сайті, який розпізнається ферментом, і що експресується клітиною-мішенню. Вказані протеази можуть секретуватись клітиною-мішенню або залишатись асоційованими з клітиною-мішенню, наприклад, на поверхні клітини-мішені. приклади протеаз включають (але, не обмежуючись тільки ними) металопротеїнази, наприклад, матричну металопротеїназу 1-28 і "дезінтегрин і металопротеіназу" (ADAM) 2, 7-12, 15, 17-23, 28-30 і 33, серинові протеази, наприклад, активатор плазміногену урокіназного типу і матриптазу, цистеїнові протеази, аспарагінові протеази і представників сімейства катепсину.

В контексті даного опису поняття "активована протеазою" по відношенню до що активує Т-клітини біспецифічної молекули відноситься до що активує Т-клітини біспецифічної молекулі, яка має знижену здатність або в якій анульована здатність активувати Т-клітини завдяки маскуючому фрагменту, що знижує або анулює здатність біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, зв'язуватись з CD3. Після дисоціації маскуючого фрагмента шляхом протеолітичного розщеплення, наприклад, протеолітичного розщеплення лінкера, що з'єднує маскуючий фрагмент з що активує Т-клітини біспецифічної молекулою, зв'язування з CD3 відновлюється і тим самим біспецифічна молекула, що активує Т-клітини активується.

Поняття "оборотне приховування" в контексті даного опису відноситься до Такого зв'язування маскуючого фрагмента або ідіотипспецифічного поліпептиду з антигензв'язуючим фрагментом або молекулою, яке заважає зв'язуванню антигензв'язуючого фрагмента або молекули з його/її антигеном, наприклад, CD3. Вказане приховування є оборотним в тому сенсі, що ідіотипспецифічний поліпептид може вивільнятися з антигензв'язуючого фрагмента або молекули, наприклад, в результаті розщеплення протеазою, і тим самим вивільняє антигензв'язуючий фрагмент або молекулу, даючи їм зв'язуватись з їх антигеном.

Детальний опис варіантів здійснення винаходу

Одним з об'єктів винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(а) перший антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3;

(б) другий антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені; і

(в) маскуючий фрагмент, ковалентно приєднаний до біспецифічної молекули, що зв'язує Т-клітини, через розщеплюваний протеазою лінкер, де маскуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з ідіотипом першого або другого антигензв'язуючого фрагмента, забезпечуючи тим самим оборотне приховування першого або другого антигензв'язуючого фрагмента.

Перший антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, містить ідіотип. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, ковалентно приєднаний до першого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки важкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки легкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента. Вказаний ковалентний зв'язок відрізняється від специфічного зв'язку маскуючого фрагмента з ідіотипом першого антигензв'язуючого сайта, яка переважно є нековалентною. Ідіотип першого антигензв'язуючого фрагмента містить його варіабельну ділянку. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент зв'язується з амінокислотними залишками, які забезпечують контакт з CD3, коли перший антигензв'язуючий фрагмент зв'язується з CD3. В переважному варіанті здійснення винаходу маскуючий фрагмент не являє собою когнатний антиген або його фрагменти першого антигензв'язуючого фрагмента, тобто маскуючий фрагмент не являє собою CD3 або його фрагменти. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент являє собою антиідіотипіве антитіло або його фрагмент. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент являє собою антиідіотиповий scFv. Наведені як приклад варіанти маскуючих фрагментів, які являють собою антиідіотиповий scFv, і активованих протеазою молекул, що активує Т-клітини, які містять вказані маскуючі фрагменти, детально описані в прикладах.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить другий маскуючий фрагмент, що оборотно приховує другий антигензв'язуючий фрагмент.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула,

що активує Т-клітини, містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, і що містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19;

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

В конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

В конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152 і SEQ ID NO: 153, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155 і SEQ ID NO: 156.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 158.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 32, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 33.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 115, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 116.

В конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з

SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 114.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19;

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55,

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19;

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152 і SEQ ID NO: 153, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155 і SEQ ID NO: 156.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55,

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 158.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19;

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з HER1, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55,

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з HER1, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 115, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 116.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19;

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

Одним з варіантів даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55,

(II) другий антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 114.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент являє собою канонічну молекулу Fab. В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені, а другий антигензв'язуючий фрагмент являє собою канонічну молекулу Fab. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу перший і другий

антигензв'язуючі фрагменти злиті один з одним, необов'язково через пептидний лінкер.

В конкретних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, додатково містить Fc-домен, який складається з першої і другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації.

В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу не більше одного антигензв'язуючого фрагмента, що має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, є присутнім в активованій протеазою біспецифічній молекулі, що активує Т-клітини (тобто активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, характеризується одновалентним зв'язуванням з CD3).

Формати активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини,

Компоненти активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, можна зливати один з одним в різних конфігураціях. Приклади конфігурацією представлені на фіг. 1А-Д і 5А-С. Додаткові приклади конфігурацій представлені на фіг. 33А-Л.

В конкретних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить Fc-домен, який складається з першої і другої субодиниць, які мають здатність до стабільної асоціації. В деяких варіантах здійснення винаходу другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену.

В одному з вказаних варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента. В конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, практично складається з першого та другого антигензв'язуючих фрагментів, Fc-домену, що складається ф першої і другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента, а другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

В іншому вказаному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. В конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, практично складається з першого та другого антигензв'язуючих фрагментів, Fc-домену, що складається ф першої і другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, в якій перший і другий антигензв'язуючий фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем однієї з субодиниць Fc-домену.

В інших варіантах здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену.

В конкретному вказаному варіанті здійснення винаходудругий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента. В конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, практично складається з першого та другого антигензв'язуючих фрагментів, Fc-домену, що складається ф першої і другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, а перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

Антигензв'язуючі фрагменти можуть бути злиті з Fc-доменом або один з одним безпосередньо або через пептидний лінкер, який містить одну або декілька амінокислот, як правило, приблизно 2-20 амінокислот. Пептидні лінкери відомі в даній галузі, і вони представлені в даному описі. Придатні неімуногенні пептидні лінкери включають, наприклад, пептидні лінкери $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$, $(G_4S)_n$ або $G_4(SG_4)_n$. Як правило, "n" позначає число від 1 до 10, як правило, від 2 до 4. Найбільш придатним пептидним лінкером для злиття одного з одним легких ланцюгів Fab першого та другого антигензв'язуючих фрагментів є $(G_4S)_2$. Прикладом пептидного лінкера, придатного для з'єднання важких ланцюгів Fab першого та другого антигензв'язуючих фрагментів є EPKSC(D)-$(G_4S)_2$ (SEQ ID NO: 105 і 106). Лінкери можуть додатково містити шарнірну ділянку імуноглобуліну (її частину). Зокрема, коли антигензв'язуючий фрагмент злитий з N-кінцем субодиниці Fc-домену, то він може бути злитий

за допомогою шарнірної ділянки імуноглобуліну або її частини з використанням або без використання додаткового пептидного лінкера.

Цінною є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, з одним антигензв'язуючим фрагментом, який має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, насамперед у випадках, коли очікується інтерналізація антигена клітини-мішені після зв'язування з антигензв'язуючим фрагментом, який має високу афінність. В таких випадках присутність декількох антигензв'язуючих фрагментів, специфічних по відношенню до антигена клітини-мішені, може підвищувати інтерналізацію антигена клітини-мішені, знижуючи тим самим його доступність.

Проте в багатьох інших випадках доцільно, щоб активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містила два або більшу кількість антигензв'язуючих фрагментів, специфічних по відношенню до антигена клітини-мішені (див. приклади, представлені на фіг. 5А-3), наприклад, для оптимізації спрямованого перенесення до сайта-мішені або для забезпечення перехресного зшивання антигенів клітини-мішені.

Так, в деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, додатково містить третій антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені. В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язуючий фрагмент являє собою канонічну молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з тим же самим антигеном клітини-мішені, що і другий антигензв'язуючий фрагмент. В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені. В конкретному варіанті здійснення винаходу другий і третій антигензв'язуючі фрагменти є ідентичними (тобто вони містять протеві амінокислотні послідовності).

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, при цьому другий

і третій антигензв'язуючі фрагменти містять варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 115, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 116.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER2, при цьому другий антигензв'язуючий фрагмент містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143 і SEQ ID NO: 144, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149 і SEQ ID NO: 150, а третій антигензв'язуючий фрагмент містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146 і SEQ ID NO: 147, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149 і SEQ ID NO: 150.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER2, при цьому другий антигензв'язуючий фрагмент

містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143 і SEQ ID NO: 144, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149 і SEQ ID NO: 150, а третій антигензв'язуючий фрагмент містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146 і SEQ ID NO: 147, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149 і SEQ ID NO: 150.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER2, при цьому другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 160, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 161, а третій антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 159, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 161.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 114.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19; а другий і третій антигензв'язуючі фрагменти мають здатність специфічно зв'язуватись з HER1, при цьому другий і третій антигензв'язуючі фрагменти містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. В більш конкретному варіанті здійснення винаходу другий і третій антигензв'язуючий фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем однієї з субодиниць Fc-домену, в перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

Другий і третій антигензв'язуючі фрагменти можуть бути злиті з Fc-доменом безпосередньо або через пептидний лінкер. В конкретному варіанті здійснення винаходу другий і третій антигензв'язуючий фрагмент кожний злитий з Fc-доменом через шарнірну ділянку імуноглобуліну. В конкретному варіанті здійснення винаходу шарнірна ділянка імуноглобуліну являє собою шарнірну ділянку людського IgG_1. В одному з варіантів здійснення винаходу другий і третій антигензв'язуючі фрагменти і Fc-домен являють собою частину молекули імуноглобуліну. В конкретному варіанті здійснення винаходу молекула імуноглобуліну являє собою імуноглобулін IgG-класу. В ще більш конкретному варіанті здійснення винаходу імуноглобулін являє собою імуноглобулін IgG_1-підкласу. В іншому варіанті здійснення винаходу імуноглобулін являє собою імуноглобулін IgG_4-підкласу. В іншому варіанті здійснення винаходу імуноглобулін являє собою людський імуноглобулін. В інших варіантах здійснення винаходу імуноглобулін являє собою химерний імуноглобулін або гуманізований імуноглобулін. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, складається в основному з молекули імуноглобуліну, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, і антигензв'язуючого фрагмента, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, в якій антигензв'язуючий фрагмент являє собою молекулу Fab, насамперед кросовер-молекулу Fab, злиту з N-кінцем однієї з важких ланцюгів імуноглобуліну, необов'язково через пептидний лінкер.

В конкретному варіанті здійснення винаходу перший і третій антигензв'язуючий фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем однієї з субодиниць Fc-домену, а другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента. У вказаному конкретному варіанті здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, практично складається з першого, іншого і третього антигензв'язуючих фрагментів, Fc-домену, що складається з першої і другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, а перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену, і в якій третій антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем другої субодиниці Fc-домену. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить гіперваріабельну ділянку (CDR) 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 44, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 45, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 46, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR 2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR 3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, яка містить CDR 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 14, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 15, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 16, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, легкого ланцюга, що має CDR 2 SEQ ID NO: 18, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, яка містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить гіперваріабельну ділянку (CDR) 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 44, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 45, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 46, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR 2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR 3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, яка містить CDR 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 151, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 152, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 153, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 154, легкого ланцюга, що має CDR 2 SEQ ID NO: 155, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 156.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1, яка містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 158.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить гіперваріабельну ділянку (CDR) 1 важкого ланцюга,

що має SEQ ID NO: 44, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 45, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 46, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR 2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR 3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з HER1, яка містить CDR 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 56, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 57, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 58, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 59, легкого ланцюга, що має CDR 2 SEQ ID NO: 60, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 61.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з HER1, яка містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 115, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 116.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить гіперваріабельну ділянку (CDR) 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 44, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 45, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 46, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR 2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR 3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з HER2, де другий антигензв'язуючий фрагмент містить CDR 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 142, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 143, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 144, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 148, легкого ланцюга, що має CDR 2 SEQ ID NO: 149, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 150, і де третій антигензв'язуючий фрагмент містить CDR 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 145, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 146, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 147, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 148, легкого ланцюга, що має CDR 2 SEQ ID NO: 149, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 150.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab,

яка має здатність специфічно зв'язуватись з HER2, де другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 160, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 161, і де третій антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 159, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 161.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить гіперваріабельну ділянку (CDR) 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 44, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 45, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 46, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR 2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR 3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, яка містить CDR 1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 107, CDR 2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 108, CDR 3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 109, CDR 1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 110, легкого ланцюга, що має CDR 2 SEQ ID NO: 111, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 112.

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(I) перший антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, де перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки, насамперед константні ділянки, легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені;

(II) другий і третій антигензв'язуючі фрагменти, кожний з яких являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном, яка містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 114.

Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із десяти вищевказаних варіантів здійснення винаходу може містити також (III) Fc-домен, який складається з першої і другої субодиниць, які мають здатність до стабільної асоціації, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, а перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену і в якій третій антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем другої субодиниці Fc-домену.

В деяких активованих протеазою біспецифічних молекулах, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході, легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента злиті один з одним, необов'язково через лінкерний пептид. Залежно від конфігурації першого і другий антигензв'язуючих фрагментів легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента може бути злита на її С-кінці з N-кінцем легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента або легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента може бути злита на її С-кінці з N-кінцем легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента. Злиття легких ланцюгів Fab першого та другого

антигензв'язуючих фрагментів може додатково знижувати помилкове спаровування невідповідних важких і легких ланцюгів Fab, а також зменшувати кількість плазмід, необхідних для експресії деяких активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид, в якому варіабельна ділянка легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента (тобто перший антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг кросовер-молекули Fab, в якій варіабельна ділянка важкого ланцюга замінена варіабельною ділянкою легкого ланцюга), що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$-CH2-CH3(-CH4)), і поліпептид, в якому важкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(2)}$-$CH1_{(2)}$-CH2-CH3(-CH4)). В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, додатково містить поліпептид, в якому варіабельна ділянка важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента ($VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$), і поліпептид легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$). В деяких варіантах здійснення винаходу поліпептиди ковалентно зв'язані, наприклад, дисульфідним зв'язком.

В альтернативних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид, в якому варіабельна ділянка важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента (тобто перший антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг кросовер-молекули Fab, в якій константна ділянка важкого ланцюга замінена константною ділянкою легкого ланцюга), що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$-CH2-CH3(-CH4)), і поліпептид, в якому важкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(2)}$-$CH1_{(2)}$-CH2-CH3(-CH4)). В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить додатково поліпептид, в якому варіабельна ділянка легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$), і поліпептид легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$). В деяких варіантах здійснення винаходу поліпептиди ковалентно зв'язані, наприклад, дисульфідним зв'язком.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид, в якому варіабельна ділянка легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента (тобто перший антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг кросовер-молекули Fab, в якій варіабельна ділянка важкого ланцюга замінена варіабельною ділянкою легкого ланцюга), що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з важким ланцюгом Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента, що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$-$VH_{(2)}$-$CH1_{(2)}$-CH2-CH3(-CH4)). В інших варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид, в якому варіабельна ділянка важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента (тобто перший антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг кросовер-молекули Fab, в якій константна ділянка важкого ланцюга заміна константною ділянкою легкого ланцюга), що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з важким ланцюгом Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента, що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$-$VH_{(2)}$-$CH1_{(2)}$-CH2-CH3(-CH4)). В наступних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид, в якому важкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з варіабельною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка в свою чергу об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента (тобто перший антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг кросовер-

молекули Fab, в якій варіабельна ділянка важкого ланцюга замінена варіабельною ділянкою легкого ланцюга), що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(2)}$-$CH1_{(2)}$-$VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$-CH2-CH3(-CH4)). В інших варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид, в якому важкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з варіабельною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка в свою чергу об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента (тобто перший антигензв'язуючий фрагмент містить важкий ланцюг кросовер-молекули Fab, в якій константна ділянка важкого ланцюга заміна константною ділянкою легкого ланцюга), що в свою чергу об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(2)}$-$CH1_{(2)}$-$VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$-CH2-CH3(-CH4)).

В деяких із вказаних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептид містить додатково поліпептид легкого ланцюга кросовер-молекули Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, в якому варіабельна ділянка важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента ($VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$), і поліпептид легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$). В інших зазначених випадках здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить додатково поліпептид легкого ланцюга кросовер-молекули Fab, в якій варіабельна ділянка легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$), і поліпептид легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$). В інших зазначених випадках здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить додатково поліпептид варіабельної ділянки легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка в свою чергу об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з поліпептидом легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$-$VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$), поліпептид, в якому варіабельна ділянка важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка в свою чергу об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з поліпептидом легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента ($VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$-$VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$), поліпептид, в якому поліпептид легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з варіабельною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка в свою чергу об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$-$VL_{(1)}$-$CH1_{(1)}$), або поліпептид, в якому поліпептид легкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента об'єднаний карбоксикінцевим пептидним зв'язком з варіабельною ділянкою важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента, яка в свою чергу об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з константною ділянкою легкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(2)}$-$CL_{(2)}$-$VH_{(1)}$-$CL_{(1)}$).

Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, відповідно до вказаних варіантів здійснення винаходу може містити додатково (I) поліпептид субодиниці Fc-домену (CH2-CH3(-CH4)), або (II) поліпептид, в якому важкий ланцюг Fab третього антигензв'язуючого фрагмента об'єднана карбоксикінцевим пептидним зв'язком з субодиницею Fc-домену ($VH_{(3)}$-$CH1_{(3)}$-CH2-CH3(-CH4)), і поліпептид легкого ланцюга Fab третього антигензв'язуючого фрагмента ($VL_{(3)}$-$CL_{(3)}$). В деяких варіантах здійснення винаходу поліпептиди ковалентно зв'язані, наприклад, дисульфідним зв'язком.

Відповідно до будь-якого із вищевказаних варіантів здійснення винаходу компоненти активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, (наприклад, антигензв'язуючий фрагмент, Fc-домен) можуть бути злиті безпосередньо або через різноманітні лінкери, насамперед пептидні лінкери, що містять одну або декілька амінокислот, як правило, приблизно 2-20 амінокислот, які вказані в даному описі і відомі в даній галузі. Придатні неімуногенні пептидні лінкери включають, наприклад, пептидні лінкери $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$, $(G_4S)_n$ або $G_4(SG_4)_n$, де, як правило, "n" позначає число від 1 до 10, як правило, від 2 до 4.

Fc-домен

Fc-домен активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, складається з пари поліпептидних ланцюгів, які містять домени важкого ланцюга молекули

імуноглобуліну. Наприклад, Fc-домен молекули імуноглобуліну Г (IgG) являє собою димер, кожна субодиниця якого містить константні домени CH2 і CH3 важкого ланцюга IgG. Дві субодиниці Fc-домену мають здатність до стабільної асоціації один з одним. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, містить не більше одного Fc-домену.

В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, являє собою Fc-домен IgG. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен являє собою Fc-домен IgG_1. В іншому варіанті здійснення винаходу Fc-домен являє собою Fc-домен IgG_4. В більш конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен являє собою Fc-домен IgG_4, який містить амінокислотну заміну в положенні S228 (нумерація за Кеботом), насамперед амінокислотну заміну S228P. Вказана амінокислотна заміна знижує in vivo обмін в Fab-плече антитіл у вигляді IgG_4 (див. Stubenrauch та ін., Drug Metabolism and Disposition 38, 2010, сс. 84-91). В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен є людським.

Модифікації Fc-домену, які сприяють гетеродимеризації

Активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, містять різноманітні антигензв'язуючі фрагменти, злиті з однією або іншою з двох субодиниць Fc-домену, при цьому дві субодиниці Fc-домену, як правило, містяться в двох неідентичних поліпептидних ланцюгах. Рекомбінантна спільна експресія цих поліпептидів і наступна димеризація призводить до декількох можливих комбінацій двох поліпептидів. Для підвищення виходу і чистоти активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, при їх одержанні методами рекомбінації доцільно інтродукувати в Fc-домен активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини модифікацію, яка сприяє асоціації необхідних поліпептидів.

Таким чином, в конкретних варіантах здійснення винаходу Fc-домен активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, запропонованої у винаході, містить модифікацію, яка сприяє асоціації першої і другої субодиниць Fc-домену. Сайт найбільш сильної білок-білкової взаємодії двох субодиниць Fc-домену людського IgG знаходиться в CH3-домені Fc-домену. Таким чином, в одному з варіантів здійснення винаходу вказана модифікація знаходиться в CH3-домені Fc-домену.

В конкретному варіанті здійснення винаходу вказана модифікація являє собою так звану модифікацію типу "knob-in-hole" (типу "виступ-западина"), яка включає модифікацію, що призводить до утворення "виступа" на одній з двох субодиниць Fc-домену і модифікацію, що призводить до утворення "западини" в іншій одній з двох субодиниць Fc-домену.

Технологія "knob-into-hole" описана, наприклад, в US № 5731168; US № 7695936; у Ridgway та ін., Prot Eng 9, 1996, сс. 617-621 і Carter, J Immunol Meth 248, 2001, сс. 7-15. В цілому, метод включає інтродукцію опуклості ("виступ") на поверхні розділу першого поліпептиду і відповідної порожнини ("западина") в поверхні розділу іншого поліпептиду, в результаті опуклість может вміщуватися в порожнину, сприяючи тим самим утворенню гетеродимера і перешкоджаючи утворенню гомодимера. Опуклості конструюють шляхом заміни амінокислот з невеликими бічними ланцюгами на поверхні розділу першого поліпептиду на амінокислоти з більш крупними бічними ланцюгами (наприклад, на тірозин або триптофан). Компенсуючі порожнини ідентичного або схожого з опуклостями розміру створюють в поверхні розділу іншого поліпептиду шляхом заміни амінокислот з крупними бічними ланцюгами на амінокислоти з менше крупними бічними ланцюгами (наприклад, аланін або треонін).

Таким чином, в конкретному варіанті здійснення винаходу в CH3-домені першої субодиниці Fc-домену активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини амінокислотний залишок замінений амінокислотним залишком, що має більший об'єм бічного ланцюга, що призводить до утворення опуклості на CH3-домені першої субодиниці, яка може поміщатись в порожнину в CH3-домені другої субодиниці, і в CH3-домені другої субодиниці Fc-домену амінокислотний залишок замінений амінокислотних залишком, що має менший об'єм бічного ланцюга, що призводить до утворення порожнини в CH3-домені другої субодиниці, в яку може поміщатись опуклість на CH3-домені першої субодиниці.

Опуклість і порожнину можна створювати шляхом зміни нуклеїнових кислот, які кодують поліпептиди, наприклад, за допомогою сайтнаправленого мутагенеза або шляхом пептидного синтезу.

В конкретному варіанті здійснення винаходу в CH3-домені першої субодиниці Fc-домену залишок треоніну в положенні 366 замінений залишком триптофану (T366W), а в CH3-домені другої субодиниці Fc-домену залишок тірозину в положенні 407 замінений на залишок валіну (Y407V). В одному з варіантів здійснення винаходу в другій субодиниці Fc-домену додатково

залишок треоніну в положенні 366 замінений на залишок серину (T366S) і залишок лейцину в положенні 368 замінений на залишок аланіну (L368A).

В наступному варіанті здійснення винаходу в першій субодиниці Fc-домену додатково залишок серину в положенні 354 замінений на залишок цистеїну (S354C), а в другій субодиниці Fc-домену додатково залишок тірозину в положенні 349 замінений на залишок цистеїну (Y349C). Інтродукція вказаних двох залишків цистеїну призводить до утворення дисульфідного містка між двома субодиницями Fc-домену, тим самим додатково стабілізуючи димер (Carter, J Immunol Methods 248, 2001, сс. 7-15).

В конкретному варіанті здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність зв'язуватись з CD3, злитий (необов'язково через антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність зв'язуватись з антигеном клітини-мішені) з першою субодиницею Fc-домену (яка містить модифікацію, що призводить до утворення "виступа"). Не вдаючись в будь-яку теорію, злиття антигензв'язуючого фрагмента, що має здатність зв'язуватись з CD3, з субодиницею Fc-домену, яка містить "виступ", повинне (додатково) мінімізуквати утворення антигензв'язуючих молекул, які містять два антигензв'язуючі фрагменти, які мають здатність зв'язуватись з CD3 (стеричне "зіткнення" двох які містять "виступ" поліпептидів).

В альтернативному варіанті здійснення винаходу модифікація, що сприяє асоціації першої і другої субодиниць Fc-домену, являє собою модифікацію, що опосередковує визначені електростатичною дією впливи, наприклад, описані в публікації PCT WO 2009/089004. В цілому, вказаний метод включає заміну одного або декількох амінокислотних залишків на поверхні розділу двох субодиниць Fc-домену на заряджені амінокислотні залишки, в результаті чого утворення гомодимера стає електростатично невигідним, а гетеродимеризація стає електростатично вигідною.

Модифікації Fc-домену, що призводять зниження зв'язування з Fc-рецептором і/або ефекторної функції

Fc-домен надає активованій протеазою біспецифічній антигензв'язуючій молекулі, що активує Т-клітини, переважні фармакокінетичні властивості, включаючи тривалий час напівжиття в сироватці, що забезпечує хороше накопичення в тканині-мішені і переважне співвідношення розподілу в тканині-крові. Проте в той же час він може призводити до небажаної направленості активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, до клітин, які експресують Fc-рецептори, а не до переважним клітинам, які несуть антиген. Крім того, спільна активація шляхів передачі сигналів Fc-рецептора може приводити до вивільнення цитокінів, що в поєднанні з властивостями, що обумовлюють активацію Т-клітин, і тривалим часом напівжиття антигензв'язуючої молекули, призводить до надлишкової активації цитокінових рецепторів і серйозних побічних дій при системному введенні. Активація імунних клітин (які несуть Fc-рецептор), відмінних від Т-клітин, може навіть знижувати ефективність активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини через можливу деструкцію Т-клітин, наприклад, NK-клітини.

Таким чином, відповідно до конкретних варіантів здійснення винаходу Fc-домен активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході, має знижену афінністю зв'язування з Fc-рецептором і/або зниженою ефекторною функцією порівняно з нативним Fc-доменом IgG_1. в одному з вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен (або активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить вказаний Fc-домен) характеризується афінністю зв'язування, що складає менше ніж 50 %, переважно менше ніж 20 %, більш переважно менше ніж 10 % і найбільш переважно менше ніж 5 % від афінності зв'язування з Fc-рецептором нативного Fc-домену IgG_1 (або активованою протеазою біспецифічною молекулою, що активує Т-клітину, яка містить нативний Fc-домен IgG_1), і/або ефекторною функцією, що складає менше ніж 50 %, переважно менше ніж 20 %, більш переважно менше ніж 10 % і найбільш переважно менше ніж 5 % від ефекторної функції нативного Fc-домену IgG_1 (або активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, яка містить нативний Fc-домен IgG_1). В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен (або активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить вказаний Fc-домен) практичале не зв'язується з Fc-рецептором і/або не індукує ефекторну функцію. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою Fcγ-рецептор. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою людський Fc-рецептор. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий Fc-рецептор. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий людський Fcγ-рецептор, більше конкретно людський FcγRIIIa, FcγRI або FcγRIIa, найбільш переважно людський FcγRIIIa. В одному з варіантів здійснення винаходу ефекторна функція являє собою одну або декілька функцій, вибраних з групи, що включає CDC, ADCC, ADCP і секрецію

цитокінів. В конкретному варіанті здійснення винаходу ефекторна функція являє собою ADCC. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен характеризується практично такою е афінністю зв'язування з неонатальним Fc-рецептором (FcRn), що і нативний Fc-домен IgG_1. Практично таке ж зв'язування з FcRn досягається, коли Fc-домен (або активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить вказаний Fc-домен), характеризується афінністю зв'язування, що складає більше ніж приблизно 70 %, переважно більше ніж приблизно 80 %, більш переважно більше ніж приблизно 90 %, від афінності зв'язування нативного Fc-домену IgG_1 (або активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, який містить нативний Fc-домен IgG_1) з FcRn.

Відповідно до деяких варіантів здійснення винаходу Fc-домен конструюють так, щоб він мав знижену афінністю зв'язування з Fc-рецептором і/або зниженою ефекторною функцією порівняно з Fc-доменом, що не піддається інженерії. В конкретних варіантах здійснення винаходу Fc-домен активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, містить одну або декілька амінокислотних мутацій, які знижують Афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором і/або ефекторну функцію. Як правило, в кожній з двох субодиниць Fc-домену є присутнім(ою) одна або декілька однакових амінокислотних мутацій. В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотна мутація знижує афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором. В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотна мутація знижує афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором принаймні в 2 рази, принаймні в 5 разів або принаймні в 10 разів. відповідно до варіантів здійснення винаходу, в яких має місце більше однієї амінокислотної мутації, які знижують афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором, комбінація вказаних амінокислотних мутацій може знижувати афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором принаймні в 10 разів, принаймні в 20 разів або навіть принаймні в 50 разів. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить сконструйований Fc-домен, характеризується афінністю зв'язування, що складає менше ніж 20 %, зокрема, менше ніж 10 %, більш переважно менше ніж 5 % від афінності зв'язування з Fc-рецептором, характерної для активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, яка містить Fc-домен, що не піддається інженерії. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою Fcγ-рецептор. В деяких варіантах здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою людський Fc-рецептор. В деяких варіантах здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий Fc-рецептор. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий людський Fc-рецептор, більше конкретно людський FcγRIIIa, FcγRI або FcγRIIa, найбільш переважно людський FcγRIIIa. Переважно зменшується зв'язування з кожним із цих рецепторів. Відповідно до деяких варіантів здійснення винаходу знижується також афінність зв'язування з компонентом системи комплемента, зокрема, афінність зв'язування з C1q. відповідно до одного з варіантів здійснення винаходу не знижується афінність зв'язування з неонатальним Fc-рецептором (FcRn). Практично такее ж зв'язування з FcRn, тобто зберігання афінності зв'язування Fc-домену із вказаним рецептором, досягається, коли Fc-домен (або активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить вказаний Fc-домен) характеризується афінністю зв'язування з FcRn, що складає більше ніж приблизно 70 % від афінності зв'язування з FcRn не підпадають під інженерію форми Fc-домену (або активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, яка містить вказану форму Fc-домену, що що не піддається інженерії). Fc-домен або активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, що містять вказаний Fc-домен, можуть характеризуватися афінністю, що складає більше ніж приблизно 80 % і навіть більше ніж приблизно 90 % від вказаній вище афінності. В деяких варіантах здійснення винаходу Fc-домен активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини створюють так, щоб він мав зниженою ефекторною функцією порівняно з Fc-доменом, що не піддається інженерії. Знижена ефекторна функція може являти собою (але, не обмежуючись тільки ними) знижчену(і) одну або декілька з наступних функцій: знижена комплементзалежна цитотоксичність (CDC), знижена антитіло-обумовлена клітиннозалежна цитотоксичність (ADCC), знижений антитіло-обумовлений клітиннозалежний фагоцитоз (ADCP), знижена секреція цитокінів, знижене опосередковане імунним комплексом поглинання антигена антигенпрезентуючими клітинами, знижене зв'язування з NK-клітинами, знижене зв'язування з макрофагами, знижене зв'язування з моноцитами, знижене зв'язування з поліморфоядерними клітинами, знижена безпосередня передача сигналу, що індукує апоптоз, знижене перехресне зшивання зв'язаних з мішенню антитіл, знижене дозрівання дендритних клітин або знижене Т-клітинне примірування. В одному з варіантів здійснення винаходу знижена ефекторна функція являє собою одну або декілька функцій, вибраних з групи, що включає знижчену CDC, знижчену ADCC, знижений ADCP і

знижчену секрецію цитокінів. В конкретному варіанті здійснення винаходу знижена ефекторна функція являє собою знижчену ADCC. В одному з варіантів здійснення винаходу знижена ADCC складає менше 20 % від ADCC, індукованої Fc-доменом, що не піддається інженерії (або активованою протеазою біспецифічної молекулою, що активує Т-клітини, яка містить що не піддається інженерії Fc-домен).

В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотна мутація, яка знижує афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором і/або ефекторну функцію, являє собою амінокислотну заміну. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну заміну в положенні, вибраному з E233, L234, L235, N297, P331 і P329. В більш конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну заміну в положенні, вибраному з L234, L235 і P329. В деяких варіантах здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотні заміни L234A і L235A. в одному з вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен являє собою Fc-домен IgG_1, зокрема, Fc-домен людського IgG_1. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну заміну в положенні P329. В більш конкретному варіанті здійснення винаходу амінокислотна заміна являє собою P329A або P329G, насамперед P329G. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну заміну в положенні P329 і, крім того, амінокислотну заміну в положенні, вибраному з E233, L234, L235, N297 і P331. В більш конкретному варіанті здійснення винаходу додаткова амінокислотна заміна являє собою E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D або P331S. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотні заміни в положеннях P329, L234 і L235. В більш конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотні мутації L234A, L235A і P329Г ("P329G LALA"). в одному з вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен являє собою Fc-домен IgG_1, насамперед Fc-домен людського IgG_1. комбінація амінокислотних замін "P329G LALA" практично повністю елімінує зв'язування з Fcγ-рецептором Fc-домену людського IgG_1 (а також з комплементом), описане в публикації PCT WO 2012/130831, яка повністю включена в даний опис як посилання. В WO 2012/130831 описані також методи одержання вказаних мутантних Fc-доменів, методи вивчення їх властивостей, таких як зв'язування з Fc-рецептором або ефекторні функції.

Антитіла підкласу IgG_4 мають знижену афінністю до зв'язування з Fc-рецепторами і зниженими ефекторними функціями порівняно з антитілами підкласу IgG_1. Таким чином, В деяких варіантах здійснення винаходу Fc-домен активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході, являє собою Fc-домен IgG_4, зокрема Fc-домен людського IgG_4. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен IgG_4 містить амінокислотні заміни в положенні S228, конкретно амінокислотну заміну S228P. Для додаткового зниження афінності зв'язування з Fc-рецептором і/або його ефекторної функції В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен IgG_4 містить амінокислотну заміну в положенні L235, зокрема, амінокислотну заміну L235E. В іншому варіанті здійснення винаходу Fc-домен IgG_4 містить амінокислотну заміну в положенні P329, зокрема, амінокислотну заміну P329G. В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен IgG_4 містить амінокислотні заміни в положеннях S228, L235 і P329, зокрема, амінокислотні заміни S228P, L235E і P329G. Вказані мутанти Fc-домену IgG_4 та їх особливості зв'язування з Fcγ-рецептором описані в публікації PCT WO 2012/130831, яка повністю включена в даний опис як посилання.

В конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен, що характеризується знижену афінністю зв'язування з Fc-рецептором і/або зниженою ефекторною функцією порівняно з нативним Fc-доменом IgG_1, являє собою Fc-домен людського IgG_1, який містить амінокислотні заміни L234A, L235A і необов'язково P329G, або Fc-домен людського IgG_4, який містить амінокислотні заміни S228P, L235E і необов'язково P329G.

В деяких варіантах здійснення винаходу елімінували N-глікозування Fc-домену. В одному з вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну мутацію в положенні N297, зокрема, амінокислотну заміну аспарагіну на аланін (N297A) або аспарагінову кислоту (N297D).

Крім Fc-доменів, описаних вище і в публікації PCT WO 2012/130831, Fc-домени зі зниженою здатністю зв'язуватись з Fc-рецептором і/або ефекторною функцією включають також Fc-домени із заміною одного або декількох залишків 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 (US № 6737056). До зазначених мутантів Fc відносяться мутанти Fc із замінами в двох або більшій кількості з амінокислотних положень 265, 269, 270, 297 і 327, включаючи так званий мутант Fc-домену "DANA" із заміною залишків 265 і 297 на аланін (US № 7332581).

Мутантні Fc-домени можна одержувати шляхом амінокислотної делеції, заміни, інсерції або модифікації з використанням генетичних або хімічних методів, добре відомих в даній галузі. генетичні методи можуть включати сайтнаправлений мутагенез кодуючої ДНК послідовності,

ПЛР, синтез генів і т.п. Правильність нуклеотидних замін можна підтверджувати, наприклад, секвенуванням.

Зв'язування з Fc-рецепторами можна легко визначати, наприклад, за допомогою ELISA або поверхневого плазмонного резонансу (SPR) з використанням стандартного обладнання, такого як пристрій BIAcore (фірма GE Healthcare), і з застосуванням таких Fc-рецепторів, які можна одержувати методом рекомбінантної експресії. прийнятний вказаний аналіз зв'язування представлений в даному описі. Альтернативно цьому, афінність зв'язування Fc-доменів або біспецифічних антигензв'язуючих молекул, що активують клітини, які містять Fc-домен, з Fc-рецепторами можна оцінювати з використанням клітинних ліній, для яких відомо, що вони експресують конкретні Fc-рецептори, такі як людські NK-клітини, що експресують FcγIIIa-рецептор.

Ефекторну функцію Fc-домену або активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, яка містить Fc-домен, можна оцінювати методами, відомими в даній галузі. прийнятний аналіз для оцінки ADCC представлений в даному описі. інші приклади аналізів in vitro, представлених для оцінки ADCC-активності молекули, що представляє інтерес, описані в US № 5500362; у Hellstrom та ін., Proc Natl Acad Sci USA 83, 1986, сс. 7059-7063 і Hellstrom та ін., Proc Natl Acad Sci USA 82, 1985, сс. 1499-1502; US № 5821337; у Bruggemann та ін., J Exp Med 166, 1987, сс. 1351-1361. Альтернативно цьому, можна застосовувати методи, основані на нерадіоактивному аналізі (див., наприклад, ACTI™ - нерадіоактивний аналіз цитотоксичності за допомогою протокової цитометрии (фірма CellTechnology, Inc. Маунтін-Вью, шт. Каліфорния); і CytoTox 96® - нерадіоактивний аналіз цитотоксичності (фірма Promega, Медісон, шт. Вісконсин)). Прийнятними ефекторними клітинами для таких аналізів є мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) і природні клітини-кілери (NK). В альтернативному або додатковому варіанті ADCC-активність молекули, що представляє інтерес, можна оцінювати in vivo, наприклад, з використанням створених на тваринах моделей, описаних у Clynes та ін., Proc Natl Acad Sci USA 95, 1998, сс. 652-656.

В деяких варіантах здійснення винаходу знижують зв'язування Fc-домену з компонентом системи комплемента, зокрема з C1q. Таким чином, В деяких варіантах здійснення винаходу, в яких Fc-домен конструюють Так, щоб він мав знижчену ефекторну функцію, вказана знижена ефекторна функція включає знижчену CDC. Можна здійснювати аналізи зв'язування C1q для вирішення питання про те, чи може активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, зв'язуватись з C1q і, як наслідок, чи має вона CDC-активність (див., наприклад, аналізи зв'язування з C1q і C3c, які проводять за допомогою ELISA, описані в WO 2006/029879 і WO 2005/100402). Для оцінки активації комплемента можна здійснювати аналіз CDC (див., наприклад, Gazzano-Santoro та ін., J Immunol Methods 202, 1996, с. 163; Cragg та ін., Blood 101, 2003, сс. 1045-1052 і Cragg і Glennie, Blood 103, 2004, сс. 2738-2743).

антигензв'язуючі фрагменти

антигензв'язуюча молекула, запропонована у винаході, є біспецифічної, тобто вна містить принаймні два антигензв'язуючі фрагменти, які мають здатність специфічно зв'язуватись з двома різними антигенними детермінантами. Відповідно до винаходу антигензв'язуючі фрагменти являють собою молекули Fab (тобто антигензв'язуючі домени, що складаються з важкого і легкого ланцюгів, кожна з яких містить варіабельну і константну ділянки). В одному з варіантів здійснення винаходу вказані молекули Fab є людськими. В іншому варіанті здійснення винаходу вказані молекули Fab є гуманізованими. Ще в одному варіанті здійснення винаходу вказані молекули Fab містять людські константні ділянки важкого і легкого ланцюгів.

Принаймні один з антигензв'язуючих фрагментів являє собою кросовер-молекулу Fab. Вказана модифікація перешкоджає помилковому спаровуванню важких і легких ланцюгів з різних молекул Fab, підвищуючи тим самим вихід і чистоту активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, при виробництві рекомбінантних молекул. Зокрема, в кросовер-молекулі Fab, яку можна застосовувати для створення активованої протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені. В іншому варіанті кросовер-молекули Fab, яку можна застосовувати для створення активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, обмінені варіабельні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab.

В конкретному варіанті здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, має здатність одночасно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, зокрема, антигеном пухлинної клітини, і CD3. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, має здатність перехресно зшивати Т-клітину і клітину-мішень шляхом одночасного зв'язування з

антигеном клітини-мішені і CD3. В ще більш конкретному варіанті здійснення винаходу вказане одночасне зв'язування призводить до лізису клітини-мішені, зокрема, пухлинної клітини. В одному з варіантів здійснення винаходу вказане одночасне зв'язування призводить до активації Т-клітини. В інших варіантах здійснення винаходу вказане одночасне зв'язування призводить до клітинної відповіді Т-лімфоцита, зокрема, цитотоксичного Т-лімфоцита, вибраного з наступної групи: проліферація, диференціювання, секреція цитокінів, вивільнення ефекторною молекули, цитотоксичність активність і експресія маркерів активації. В одному з варіантів здійснення винаходу зв'язування активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, з CD3 без одночасного зв'язування з антигеном клітини-мішені не призводить до Т-клітинної активації.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, має здатність перенаправляти цитотоксичну активність Т-клітини на клітину-мішень. В конкретному варіанті здійснення винаходу вказана перенаправленість не залежить від опосередковану ГКГС презентації пептидного антигена клітиною-мішенню і/або від специфічності Т-клітини.

Зокрема, відповідно до деяких варіантів здійснення винаходу Т-клітина являє собою цитотоксичну Т-клітину. В деяких варіантах здійснення винаходу Т-клітина являє собою $CD4^+$- або $CD8^+$-Т-клітину, насамперед $CD8^+$-Т-клітину.

CD3-зв'язуючий фрагмент

активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність зв'язуватись з CD3 (в даному описі його позначають також як "який зв'язує антиген CD3 фрагмент" або "перший антигензв'язуючий фрагмент"). В конкретному варіанті здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить не більше одного антигензв'язуючого фрагмента, що має здатність специфічно зв'язуватись з CD3. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, характеризується одновалентним зв'язуванням з CD3. Молекула, що зв'язує антиген CD3, являє собою кросовер-молекулу Fab, тобто молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки важких і легких ланцюгів Fab обмінені. В варіантах здійснення винаходу, в яких не більше одного антигензв'язуючого фрагмента, що має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, входить в активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, переважно являє собою кросовер-молекулу Fab, а антигензв'язуючі фрагменти, які мають здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, являють собою канонічні молекули Fab.

В конкретному варіанті здійснення винаходу CD3 являє собою CD3 людини або CD3 мавп ціномолгус, більше конкретно, людський CD3. В конкретному варіанті здійснення винаходу який зв'язує антиген CD3 фрагмент має перехресну реактивність з (тобто специфічно зв'язується з) CD3 людини і мавп ціномолгус. В деяких варіантах здійснення винаходу перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з епсилон-субодиницею CD3.

Фрагмент, який зв'язує антиген CD3, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 і SEQ ID NO: 13, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу який зв'язує антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 11, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 12, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 13, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу який зв'язує антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 44, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 45, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 46, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу який зв'язує антиген CD3 фрагмент містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу який зв'язує антиген CD3 фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, і

варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу який зв'язує антиген CD3 фрагмент містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга SEQ ID NO: 43 і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга SEQ ID NO: 55.

Фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені

Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована у винаході, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність зв'язуватись з антигеном клітини-мішені (в даному описі його позначають також як "фрагмент, що зв'язує антиген клітини-мішені" або "другий" або "третій" антигензв'язуючий фрагмент"). В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить два антигензв'язуючі фрагменти, які мають здатність зв'язуватись з антигеном клітини-мішені. У конкретному вказаному варіанті здійснення винаходукожний із вказаних антигензв'язуючих фрагментів специфічно зв'язується з однією і тією ж антигенною детермінантною. В ще більш конкретному варіанті здійснення винаходу всі вказані антигензв'язуючі фрагменти є ідентичними. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить молекулу імуноглобуліну, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить не більше двох антигензв'язуючих фрагментів, які мають здатність зв'язуватись з антигеном клітини-мішені.

В переважному варіанті здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, являє собою молекулу Fab, насамперед канонічну молекулу Fab, яка зв'язується зі специфічною антигенною детермінантою і може направляти активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, до сайта-мішені, наприклад, специфічного типу пухлинної клітини, яка несе антигенну детермінанту.

В деяких варіантах здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, специфічно зв'язується з антигеном клітинної поверхні. В конкретному варіанті здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, специфічно зв'язується з фолатним рецептором 1 (FolR1) на поверхні клітини-мішені. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, специфічно зв'язується з рецептором епідермального фактора росту (EGFR), зокрема, з людським EGFR, наприклад, HER1. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, специфічно зв'язується з HER2. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, специфічно зв'язується з мезотеліном, зокрема, з людським мезотеліном.

В деяких варіантах здійснення винаходу фрагмент, який зв'язує антиген клітини-мішені, направлений на антиген, асоційований з патологічним станом, таким як антиген, що презентуються на пухлинній клітині або інфікованій вірусом клітині. прийнятними антигенами є антигени клітинної поверхні, наприклад (але не обмежуючись тільки ними) рецептори клітинної поверхні. В конкретних варіантах здійснення винаходу антиген являє собою людський антиген. В конкретному варіанті здійснення винаходу антиген клітини-мішені вибирають з фолатного рецептора 1 (FolR1) і рецептора епідермального фактора росту (EGFR), зокрема, людського EGFR, наприклад, HER1. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу антиген клітини-мішені являє собою HER2. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу антиген клітини-мішені являє собою мезотелін.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 56, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 57, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 58, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 59, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 60, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 61.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів антитіла до HER1, описаного в опублікованій заявці PCT WO 2006/082515.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить принаймні одну поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 32, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 33, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 34. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить принаймні одну поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 32, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 33 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 34.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково антиідіотиповий по відношенню до CD3 scFv (антиідіотиповий CD3 scFv), що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково антиідіотиповий CD3 scFv, який містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 41 або 42. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий CD3 scFv містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 41 або 42.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково антиідіотиповий HER1 scFv, що містить принаймні одну CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 48, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 49, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 51, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 48, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 49, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 51, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково лінкер, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 35.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково лінкер, що має сайт, який розпізнається протеазою, який містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить

поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 97. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER1, містить додатково лінкер, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 86.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143 і SEQ ID NO: 144, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149 і SEQ ID NO: 150. В одному з додаткових варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146 і SEQ ID NO: 147, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149 і SEQ ID NO: 150.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 142, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 143, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 144, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 148, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 149, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 150. В одному з додаткових варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 145, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 146, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 147, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 148, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 149, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 150.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить додатково антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить додатково антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить додатково антиідіотиповий CD3 scFv, який містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 41 або 42. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий CD3 scFv містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 41 або 42.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, що містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по

відношенню до HER2, містить додатково антиідіотиповий HER2 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 48, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 49, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 51, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 48, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 49, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 51, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить додатково лінкер, який містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 35.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить додатково лінкер, що має сайт, який розпізнається протеазою, який містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 97. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до HER2, містить додатково лінкер, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 86.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 132, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 136, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 81, і поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 133.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 132, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 136, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 81 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 133.

В конкретних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу FolR1 являє собою людський FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до людського FolR1, і не зв'язується з людським FolR2 або людським FolR3. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 14, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 15, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 16, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 19.

В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка

ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 47, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 55, або їх варіанти, які зберігають функціональність.

В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47, і варіабельної ділянки легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152 і SEQ ID NO: 153, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155 і SEQ ID NO: 156.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 151, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 152, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 153, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 154, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 155, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 156.

В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 157, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 158, або їх варіанти, які зберігають функціональність.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 157, і варіабельної ділянки легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 158.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 2, і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 1.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 2 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 1.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, додатково містить антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, додатково містить антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, додатково містить антиідіотиповий CD3 scFv, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 41 або 42. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить

поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 41 або 42.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, додатково містить лінкер, що має який розпізнається протеазою сайт, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 97. В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до FolR1, додатково містить лінкер, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 86.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 3, і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 72.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 3, і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 72.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 3, і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 85.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 3, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 73 і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 74.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 3 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 72.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 3 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 85.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 1, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 3, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 73 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 74.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 137, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 139, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ

ID NO: 81 і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 138.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 137, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 139, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 81 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 138.

В конкретних варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну. В одному з варіантів здійснення винаходу мезотелін являє собою людський мезотелін. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до людського мезотеліну. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111 і SEQ ID NO: 112.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 107, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 108, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 109, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 110, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 111, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 112.

В наступному варіанті здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 113, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 114, або їх варіанти, які зберігають функціональність.

В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, додатково містить антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, додатково містить антиідіотиповий CD3 scFv, що містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, додатково містить антиідіотиповий CD3 scFv, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 41 або 42. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий scFv містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 41 або 42.

В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, додатково містить лінкер, що має який розпізнається протеазою

сайт, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 97. В деяких варіантах здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить принаймні один антигензв'язуючий фрагмент, специфічний по відношенню до мезотеліну, додатково містить лінкер, що містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 86.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 78, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 81 і поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 82.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 76, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 78, і поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 79.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 78, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 81 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 82.

В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 76, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 78 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 79.

Одним з варіантів здійснення винаходу є біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 76, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 78, і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 81.

Одним з варіантів здійснення винаходу є біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 78, поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 81, і поліпептидну послідовність, ідентичну принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 84.

В одному з варіантів здійснення винаходу біспецифічна молекула, що активує Т-клітини містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 76, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 78 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 81.

В одному з варіантів здійснення винаходу біспецифічна молекула, що активує Т-клітини містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 77, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 78, поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 81 і поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 84.

Маскуючий фрагмент

активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована у

винаході, містить принаймні один маскуючий фрагмент. В інших дослідженнях робилися спроби маскувати зв'язування антитіла шляхом кепірування зв'язуючого фрагмента фрагментом антигена, що розпізнається, зв'язуючим фрагментом (див., наприклад, WO 2013/128194). цей підхід має декілька обмежень. Наприклад, застосування антигена зменшує гнучкість по відношенню до зменшення афінності зв'язуючого фрагмента. Це обумовлено тим, що афінність повинна бути достатньо високою для відповідного маскування маскуючим антигеном. Крім того, після дисоціації антиген може потенційно зв'язуватись і взаємодіяти з його когнатним(ними) рецептором(ами) in vivo і викликати небажані сигнали в клітинах, що експресують вказаний рецептор. На противагу цьому, в підході, представленому в даному описі, для маскування застосовують антиідіотипіве антитіло або його фрагмент. Двома альтернативними факторами, які можна розглядати для створення ефективного маскуючого фрагмента є 1. ефективність маскування і 2. оборотність маскування. Якщо афінність є занадто низькою, то маскування може виявитись неефективною. Проте, якщо афінність є занадто високою, то процес маскування може бути недостатньо оборотним. Не можна передбачити, який агент буде краще "працювати": антиідіотиповий маскуючий агент з високою афінністю або антиідіотиповий маскуючий агент з низькою афінністю. Як зазначено в даному описі маскуючі фрагменти, які мають більш високу афінність, в цілому забезпечували краще маскування антигензв'язуючого сайта і одночасно могли ефективно бути видалені з метою активації молекули. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий маскуючий агент має KD 1-8нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий маскуючий агент має KD 2нМ при 37 °С. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий маскуючий фрагмент розпізнає ідіотип першого антигензв'язуючого фрагмента, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3, наприклад, людським CD3. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу антиідіотиповий маскуючий фрагмент розпізнає ідіотип іншого антигензв'язуючого фрагмента, який має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені.

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує CD3-зв'язуючий фрагмент і містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 20, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 21, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 22, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 23, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 24, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 25.

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує CD3-зв'язуючий фрагмент і містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 41. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує CD3-зв'язуючий фрагмент і містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 41.

В одному з переважних варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує CD3-зв'язуючий фрагмент і містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 26, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 27, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 28, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 29, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 30, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує CD3-зв'язуючий фрагмент і містить поліпептидну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % SEQ ID NO: 42. В одному з варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує CD3-зв'язуючий фрагмент і містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 42.

В одному з переважних варіантів здійснення винаходу маскуючий фрагмент маскує HER1-зв'язуючий фрагмент і містить принаймні один з CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 48, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 49, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 51, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53. В одному з варіантів здійснення винаходу анти-ідіотиповий scFv містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 48, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 49, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого

ланцюга, що має SEQ ID NO: 51, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53.

Одним з об'єктів винаходу є ідіотипспецифічний поліпептид, призначений для оборотного приховування сайта зв'язування антигена антигензв'язуючої молекули. Одним з варіантів здійснення винаходу є ідіотипспецифічний поліпептид, призначений для оборотного приховування анти-CD3 антигензв'язуючого сайта молекули. Вказаний ідіотипспецифічний поліпептид, призначений для оборотного приховування анти-CD3 антигензв'язуючого сайта, повинен мати здатність специфічно зв'язуватись з ідіотипом анти-CD3 антигензв'язуючого сайта і тим самим знижувати або анулювати зв'язування анти-CD3 антигензв'язуючого сайта з CD3. Одним з варіантів здійснення винаходу є ідіотипспецифічний поліпептид, призначений для оборотного приховування анти- HER1 антигензв'язуючого сайта молекули. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид являє собою антиідіотиповий scFv. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно приєднаний до молекули через лінкер. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно приєднаний до молекули через декілька лінкерів. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно приєднаний до молекули через два лінкера. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер являє собою пептидний лінкер. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер являє собою лінкер, розщеплений протеазою. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить послідовність SEQ ID NO: 7, 8, 9 або 10. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить послідовність SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95 або 96. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 7. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 86. В одному з варіантів здійснення винаходу лінкер містить принаймні один сайт, який розпізнається протеазою. В одному з варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить поліпептидну послідовність SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105 або 106. В одному з переважних варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36). В іншому варіанті здійснення винаходу лінкер містить декілька які розпізнаються протеазою сайтів. В одному з переважних варіантів здійснення винаходу який розпізнається протеазою сайт містить розпізнавану протеазою послідовність VHMPLGFLGPRQARVVNG (SEQ ID NO:97). В одному з варіантів здійснення винаходу протеазу вибирають з групи, що складається з металопротеїнази, наприклад, матричної металопротеїнази 1-28 і "дезінтегрину і металопротеїнази" (ADAM) 2, 7-12, 15, 17-23, 28-30 і 33, серинової протеази, наприклад, активатора плазміногену урокіназного типу і матриптази, цистеїнової протеази, аспарагінової протеази і протеази катепсину. В конкретних варіантах здійснення винаходу протеаза являє собою MMP9 або MMP2. В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу протеаза являє собою матриптазу.

В одному з варіантів здійснення винаходу молекула, яка містить анти-CD3 антигензв'язуючий сайт являє собою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних ділянок: гіперваріабельну ділянку важкого ланцюга (CDR H) 1, що має амінокислотну послідовність DYSIH (SEQ ID NO: 20); CDR H2, що має амінокислотну послідовність WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); і CDR H3, що має амінокислотну послідовність PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних ділянок: гіперваріабельну ділянку легкого ланцюга (CDR L) 1, що має амінокислотну послідовність RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23); CDR L2, що має амінокислотну послідовність YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і CDR L3, що має амінокислотну послідовність QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить: гіперваріабельну ділянку важкого ланцюга (CDR H) 1, що має амінокислотну послідовність DYSIH (SEQ ID NO: 20); CDR H2, що має амінокислотну послідовність WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); CDR H3, що має амінокислотну послідовність PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить: (CDR L) 1 легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23); CDR L2, що має амінокислотну послідовність YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і CDR L3, що має амінокислотну послідовність QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних ділянок: гіперваріабельну ділянку важкого ланцюга (CDR H) 1, що має амінокислотну послідовність

SYGVS (SEQ ID NO: 26); CDR H2, що має амінокислотну послідовність IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27); і CDR H3, що має амінокислотну послідовність GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних ділянок: (CDR L) 1 легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29); CDR L2, що має амінокислотну послідовність AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і CDR L3, що має амінокислотну послідовність QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить: гіперваріабельну ділянку важкого ланцюга (CDR H) 1, що має амінокислотну послідовність SYGVS (SEQ ID NO: 26); CDR H2, що має амінокислотну послідовність IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27); CDR H3, що має амінокислотну послідовність GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить: (CDR L) 1 легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29); CDR L2, що має амінокислотну послідовність AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і CDR L3, що має амінокислотну послідовність QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31). В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних ділянок: гіперваріабельну ділянку важкого ланцюга (CDR H) 1, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR H2 що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR H3 що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних ділянок: гіперваріабельну ділянку легкого ланцюга (CDR L) 1, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR L2, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR L3, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить: гіперваріабельну ділянку важкого ланцюга (CDR H) 1, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR H2, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR H3, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить: гіперваріабельну ділянку легкого ланцюга (CDR L) 1, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR L2, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR L3, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

Полінуклеотиди

Винахід відноситься також до виділених полінуклеотидів, які кодують активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, представлену в даному описі, або її фрагмент. В деяких варіантах здійснення винаходу вказаний фрагмент являє собою антигензв'язуючий фрагмент.

Полінуклеотиди, запропоновані у винаході, включають полінуклеотиди, послідовності яких принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, або 100 % ідентичні послідовностям, представленим в SEQ ID NO: 62-71 або в SEQ ID NO:, включаючи їх функціональні фрагменти або варіанти. Полінуклеотиди, запропоновані у винаході, включають також полінуклеотиди, послідовності яких принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, або 100 % ідентичні послідовностям, представленим в SEQ ID NO: 117-131, включаючи їх функціональні фрагменти або варіанти. Полінуклеотиди, запропоновані у винаході, включають також полінуклеотиди, послідовності яких принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, або 100 % ідентичні послідовностям, представленим в SEQ ID NO: 162-170, включаючи їх функціональні фрагменти або варіанти.

Полінуклеотиди, що кодують активовані протеазою біспецифічні молекули, які активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна експресувати у вигляді індивідуального полінуклеотиду, що кодує повну активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, або у вигляді декількох (наприклад, двох або більшої кількості) спільно експресованих полінуклеотидів. Поліпептиди, які кодуються спільно експресованими полінуклеотидуми, можна з'єднувати, наприклад, через дисульфідні зв'язки або іншими шляхами з утворенням функціональної біспецифічної молекули, активованої протеазою, що активує Т-клітини. Наприклад, частину антигензв'язуючого фрагмента, що являє собою легкий ланцюг, може кодуватись полінуклеотидом, відмінним від полінуклеотиду, що кодує частину активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, яка містить частину антигензв'язуючого фрагмента, що являє собою важкий ланцюг, субодиницю Fc-домену і необов'язково (частину) іншого антигензв'язуючого фрагмента. При спільній експресії поліпептиди важких ланцюгів повинні зв'язуватися з поліпептидами легких ланцюгів з утворенням антигензв'язуючого фрагмента. В іншому прикладі частину активованою протеазою

біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, яка містить одну з двох субодиниць Fc-домену і необов'язково один або декілька (частину одного або декількох) антигензв'язуючих фрагментів, може кодуватись полінуклеотидом, відмінним від полінуклеотиду, що кодує частину активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, яка містить другу з двох субодиниць Fc-домену і необов'язково антигензв'язуючий фрагмент (його частину). При спільній експресії субодиниці Fc-домену повинні зв'язуватися з утворенням Fc-домену.

В деяких варіантах здійснення винаходу виділений полінуклеотид кодує повну вказану в даному описі активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході. В інших варіантах здійснення винаходу виділений полінуклеотид кодує поліпептиди, що входять до вказаної вказану в даному описі активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході.

Інший варіант здійснення даного винаходу відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки. Інший варіант здійснення даного винаходу відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує поліпептидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 47 або 55. Інший варіант здійснення даного винаходу відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує поліпептидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 47, 55, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85. Інший варіант здійснення даного винаходу відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує поліпептидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 47, 55, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140 або 141. Іншим варіантом здійснення даного винаходу є також виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % нуклеотидній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 або 71. Іншим варіантом здійснення даного винаходу є також виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % нуклеотидній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130 або 131. Іншим варіантом здійснення даного винаходу є також виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % нуклеотидній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169 або 170. Іншим варіантом здійснення винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить нуклеотидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 або 71. Іншим варіантом здійснення винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить нуклеотидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130 або 131. Іншим варіантом здійснення винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить нуклеотидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169 або 170. Іншим варіантом здійснення винаходу є також виділений полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, що кодує послідовність варіабельної ділянки, яка ідентична принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 43, 47 або 55. Винахід відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою

біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки SEQ ID NO: 43, 47 або 55 з консервантивними амінокислотними замінами.

Інший варіант здійснення винаходу відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, що кодує послідовність варіабельної ділянки, яка ідентична принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 43, 47, 55, 113, 114, 115 або 116. Винахід відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки SEQ ID NO: 43, 47, 55, 113, 114, 115 або 116 з консервантивними амінокислотними замінами.

Інший варіант здійснення винаходу відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, що кодує послідовність варіабельної ділянки, яка ідентична принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 43, 47, 55, 113, 114, 115, 116, 157, 158, 159, 160 або 161. Винахід відноситься до виділеного полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки SEQ ID NO: 43, 47, 55, 113, 114, 115, 116, 157, 158, 159, 160 або 161 з консервантивними амінокислотними замінами.

В деяких варіантах здійснення винаходу полінуклеотид або нуклеїнова кислота являє собою ДНК. В інших варіантах здійснення винаходу полінуклеотид, запропонований в даному винаході, являє собою РНК, наприклад, в формі матричної РНК (мРНК). РНК, запропонована в даному винаході, може бути одноланцюговою або дволанцюговою.

У винаході запропоновані також виділені полінуклеотиди, які кодують ідіотипспецифічний поліпептид, вказаний в даному описі, або його фрагмент. В деяких варіантах здійснення винаходу вказаний фрагмент являє собою фрагмент, зв'язуючий ідіотип, тобто антиідіотипспецифічне антитіло або його фрагмент. В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид являє собою антиідіотиповий scFv.

Винахід відноситься також до виділеного полінуклеотиду, що кодує ідіотипспецифічний поліпептид, запропонований у винаході, або його фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує одну або декілька з поліпептидних послідовностей, представлених в SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 48, 49, 50, 51, 52 і 53. Винахід відноситься також до виділеного полінуклеотиду, що кодує ідіотипспецифічний поліпептид, запропонований у винаході, або його фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує одну або декілька з поліпептидних послідовностей, представлених в SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 48, 49, 50, 51, 52 і 53, з консервантивними амінокислотними замінами.

Полінуклеотиди, що кодують ідіотипспецифічні поліпептиди, запропоновані у винаході, можна експресувати у вигляді індивідуального полінуклеотиду, що кодує повний ідіотипспецифічний поліпептид, або у вигляді декількох (наприклад, двох або більшої кількості) спільно експресованих полінуклеотидів. Поліпептиди, які кодуються спільно експресованими полінуклеотидуми, можна з'єднувати, наприклад, через дисульфідні зв'язки або іншими шляхами з утворенням функціонального ідіотипспецифічного поліпептиду, наприклад, маскуючого фрагмента активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини. Наприклад, В одному з варіантів здійснення винаходу ідіотипспецифічний поліпептид являє собою антиідіотиповий scFv (одноланцюговий варіабельний фрагмент), в якому частину, що являє собою легкий ланцюг антиідіотипового scFv, може кодуватись полінуклеотидом, відмінним від полінуклеотиду, що кодує частину антиідіотипового scFv, що являє собою варіабельну ділянку важкого ланцюга антиідіотипового scFv.При спільній експресії поліпептиди важких ланцюгів повинні зв'язуватися з поліпептидами легких ланцюгів з утворенням антиідіотипового scFv. В деяких варіантах здійснення винаходу виділений полінуклеотид кодує вказаний в даному описі ідіотипспецифічний поліпептид, запропонований у винаході.

В деяких варіантах здійснення винаходу полінуклеотид або нуклеїнова кислота являє собою ДНК. В інших варіантах здійснення винаходу полінуклеотид, запропонований в даному винаході, являє собою РНК, наприклад, в формі матричної РНК (мРНК). РНК, запропонована в даному винаході, може бути одноланцюговою або дволанцюговою.

Методи рекомбинації

Активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у

винаході, можна одержувати, наприклад, шляхом твердофазного пептидного синтезу (наприклад, твердофазний синтез Меріфільда) або методом рекомбінації. Для рекомбінантного одержання один або декілька полінуклеотидів, які кодують активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, (фрагмент), наприклад, описану вище, виділяють і вбудовують в один або декілька векторів для додаткового клонування і/або експресії в клітині-хазяїні. Вказаний полінуклеотид можна легко виділяти і секвенувати за допомогою загальноприйнятих процедур. Одним з варіантів здійснення винаходу є вектор, переважно експресійний вектор, який містить один або декілька полінуклеотидів, запропонованих у винаході. Методи, добре відомі спеціалістам в даній галузі, можна застосовувати для конструювання експресійних векторів, які містять що кодує послідовність активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, (фрагмента) поряд з прийнятними контролюючими транскрипцію/трансляцію сигналами. Ці методи включають технології рекомбінантної ДНК in vitro, методи синтезу і рекомбінації/генетичної рекомбінації in vivo (див., наприклад, методи, описані у Maniatis та ін., Maniatis та ін., Molecular Cloning A Laboratory Manual, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1989; і Ausubel та ін., Current Protocols in Molecular Biology, вид-во Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989). Експресійний вектор може являти собою частину плазміди, вірусу або може являти собою фрагмент нуклеїнової кислоти. Експресійний вектор включає касету експресії, в якій полінуклеотид, який кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, (фрагмент) (тобто що кодує ділянка), клонують із обезпеченням функціонального зв'язку з промотором і/або іншими елементами, що контролюють транскрипцію або трансляцію. В контексті даного опису "кодуюча ділянка" являє собою частину нуклеїнової кислоти, яка складається з кодонів, що транслюються в амінокислотах. Хоча "стоп-кодон" (TAG, TGA або TAA) не транслюється в амінокислоту, він, у випадку його присутності, може розглядатись як частину кодуючої ділянки, проте будь-які фланкуючі послідовності, наприклад, промотори, сайти зв'язування рибосом, термінатори транскрипції, інтрони, 5'- і 3'-нетрансльовані ділянки і т.п., не є частиною кодуючої ділянки. Дві або більша частина ділянок, які кодують, може бути присутньою в індивідуальній полінуклеотидній конструкції, наприклад, індивідуальному векторі, або в окремих полінуклеотидних конструкціях, наприклад, окремих (різних) векторах. Крім того, будь-який вектор може містити одну кодуючу ділянку або може містити дві або більшу кількість кодуючих ділянок, наприклад, вектор, запропонований в даному винаході, може кодувати один або декілька поліпептидів, які пост- або котранляційно розділяються на кінцеві білки за допомогою протеолітичного розщеплення. Крім того, вектор, полінуклеотид або нуклеїнова кислота, запропонований/запропонована у винаході, може кодувати гетерологічні кодуючі ділянки, або злиті, або не злиті з полінуклеотидом, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, (фрагмент), запропоновану у винаході, або її варіант або похідне. Гетерологічні кодуючі ділянки включають (але, не обмежуючись тільки ними) спеціалізовані елементи або мотиви, такі як секреторний сигнальний пептид або гетерологічний функціональний домен. Функціональний зв'язок має місце, коли кодуюча ділянка генного продукту, наприклад, поліпептиду, асоційована з однією або декількома регуляторними послідовностями Таким чином, щоб експресія генного продукту знаходилась під впливом або контролем регуляторної(тх) послідовності(ей). Два ДНК-фрагменти (такі як кодуюча ділянка поліпептиду і асоційований з нею промотор) є "функціонально зв'язаними", якщо індукція промоторної функції призводить до транскрипції мРНК, що кодує необхідний генний продукт, і якщо природа зв'язку між двома ДНК-фрагментами не чинить впливу на здатність послідовностей, що регулюють експресію, направляти експресію генного продукту, або не чинить впливу на здатність ДНК-матриці до транскрипції. Таким чином, промоторна ділянка повинна бути функціонально зв'язана з нуклеїновою кислотою, кодуючої поліпептид, якщо промотор має здатність здійснювати транскрипцію нуклеїнової кислоти. Промотор може являти собою специфічний для клітини промотор, що забезпечує значну транскрипцію ДНК тільки в попередньо відібраних клітинах. Інші елементи, які контролюють транскрипцію, крім промотора, наприклад, енхансери, оператори, репресори і сигнали термінації транскрипції, можна функціонально зв'язувати з полінуклеотидом для забезпечення специфічної для клітини транскрипції. Прийнятні промотори та інші ділянки, що контролюють транскрипцію, представлені в даному описі. Спеціалістам в даній галузі відомо широке розмаїття ділянок, які контролюють транскрипцію. Вони включають (але, не обмежуючись тільки ними) ділянки, що контролюють транскрипцію, які функціонують в клітинах хребетних тварин, такі як (але, не обмежуючись тільки ними) сегменти промоторів і енхансерів з цитомегаловірусів (наприклад, негайно-ранній промотор в поєднанні з інтроном-А), мавпячого вірусу 40 (наприклад, ранній промотор) і ретровірусів (таких як вірус саркоми Рауса). Інші ділянки, що контролюють транскрипцію,

включають ділянки, одержують з генів хребетних тварин, таких як ген актину, білка теплового шоку, бичачого гормону росту і кролячого α-глобіну, а також інші послідовності, які можуть контролювати експресію генів в клітині. Додаткові прийнятні ділянки, які контролюють транскрипцію, включають тканиноспецифічні промотори і енхансери, а також індуцибельні промотори (наприклад, промотори, індуковані тетрациклінами). Аналогічно цьому, звичайним спеціалістам в даній галузі відоме широке розмаїття елементів, які контролюють трансляцію. Вони включають (але, не обмежуючись тільки ними) сайти зв'язування рибосом, кодони ініціації трансляції та термінуючі кодони і елементи, одержані з вірусних систем (зокрема внутрішній сайт зв'язування (посадки) рибосом або IRES, який позначають також як CITE-послідовність). Касета експресії може включати також інші характерні структури, такі як сайт ініціації реплікації і/або інтегровані в хромосому елементи, такі як довгі кінцеві повтори (LTR) ретровірусів, або інвертовані кінцеві повтори (ITR) аденоасоційованого вірусу (AAV).

Кодуючі ділянки полінуклеотиду і нуклеїнової кислоти, запропоновані в даному винаході, можуть бути асоційовані з додатковими кодуючими ділянками, що кодують секреторні або сигнальні пептиди, які направляють секрецію поліпептиду, що кодується полінуклеотидом, запропонованим в даному винаході. Наприклад, якщо потрібна секреція активованої протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, то ДНК, що кодує сигнальну послідовність, можна поміщати проти ходу транскрипці по відношенню до нуклеїнової кислоти, кодуючої активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, або її фрагмент. Відповідно до гіпотези, що стосується сигналів, білки, що секретуються клітинами ссавців, мають сигнальний пептид або секреторну лідерну послідовність, який/яка відщеплюється від зрілого білка після ініціації експорту зростаючого білкового ланцюга через шорсткий ендоплазматичний ретикулум. Звичайним спеціалістам в даній галузі має бути очевидно, що поліпептиди, які секретуються клітинами хребетних тварин, як правило, мають сигнальний пептид, злитий з N-кінцем поліпептиду, який відщеплюється від трансльованого поліпептиду з утворенням секретованої або "зрілої" форми поліпептиду. В деяких варіантах здійснення винаходу використовують нативний сигнальний пептид, наприклад, сигнальний пептид важкого ланцюга або легкого ланцюга імуноглобуліну або функціональне похідне зазначеної послідовності, що зберігає здатність забезпечувати секрецію поліпептиду, функціонально зв'язаного з ним. Альтернативно цьому, можна застосовувати гетерологічний сигнальний пептид ссавців або його функціональне похідне. Наприклад, лідерну послідовність дикого типу можна замінювати на лідерну послідовність людського тканинного активатора плазміногену (TPA) або мишачої β-глюкуронідази.

ДНК, що кодує коротку білкову послідовність, яку можна застосовувати для полегшення подальшої очистки (наприклад, гістидинову мітку), або призначену для мічення активованої протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, можна включати всередину або на кінці полінуклеотиду, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, (фрагмент).

Додатковим варіантом здійснення винаходу є клітина-хазяїн, що містить один або декілька полінуклеотидів, запропонованих у винаході. Деякими варіантами здійснення винаходу є клітина-хазяїн, що містить один або декілька векторів, запропонованих у винаході. Полінуклеотиди і вектори можуть мати будь-які особливості, індивідуально або в поєднанні, вказані в даному описі по відношенню до полінуклеотидів і векторів відповідно. В одному з таких варіантів здійснення винаходу клітина-хазяїн містить (наприклад, трансформована або трансфектована) вектором, полінуклеотид, який кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході (або її частинину). В контексті даного опису поняття "клітина-хазяїн" відноситься до будь-якого типу клітинної системи, яку можна конструювати для одержання активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході, або їх фрагментів. Клітини-хазяїни, придатні для реплікації і для підтримання експресії активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, добре відомі в даній галузі. Такі клітини можна трансфектувати або трансдукувати відповідним чином конкретним експресійним вектором і можна вирощувати у великих кількостях клітини, що містять вектор, з метою внесення їх в ферментери для крупномасштабних процесів одержання активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, в достатніх для клінічних застосувань кількостях. прийнятними клітинами-хазяїнами є прокаріотичні мікроорганізми, такі як E. coli, або різноманітні еукаріотичні клітини, такі як клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), клітини комах або т.п. Наприклад, поліпептиди можна одержувати в бактеріях, зокрема, коли відсутня потреба в глікозилюванні. Після експресії поліпептид можна виділяти з пасти бактеріальних клітин в розчинну фракцію і можна додатково очищати. крім прокаріот, як хазяїнів для клонування або експресії векторів, які

кодують поліпептид, можна використовувати еукаріотичні мікроорганізми, такі як нитчасті гриби або дріжджі, включаючи штами грибів і дріжджів, шляхи глікозилювання яких були "гуманізовані", що дозволяє одержувати поліпептид з частково або повністю людською схемою глікозилювання (див. Gerngross, Nat. Biotech. 22, 2004, сс. 1409-1414 і Li та ін., Nat. Biotech. 24, 2006, сс. 210-215). Клітини-хазяїни, які можна використовувати для експресії (глікозильованих) поліпептидів, одержують також з багатоклітинних організмів (безхребетних і хребетних тварин). Прикладами клітин безхребетних є клітини комах, а також можна застосовувати клітини рослин. Були виявлені багаточисельні бакуловірусні штами і відповідні придатні для них як хазяїнів клітини комах, насамперед для трансфекції клітин Spodoptera frugiperda. Як хазяїнів можна застосовувати також культури рослинних клітин (див., наприклад, US №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 і 6417429 (опис технології PLANTIBODIES™ для одержання антитіл в трансгенних рослинах). Як хазяїнів можна застосовувати також клітини хребетних тварин. Наприклад, можна використовувати клітинні лінії ссавців, які адаптовані до росту в суспензії. Іншими прикладами прийнятних ліній клітин-хазяїнів ссавців є лінія клітин нирки мавпи CV1, трансформована за допомогою SV40 (COS-7); лінія клітин нирки ембріона людини (293 або клітини лінії 293, субклоновані з метою вирощування в суспензійний культурі, Graham та ін., J. Gen. Virol., 36, 1977, с. 59); клітини нирки дитинчати хом'яка (ВНК); клітини Сертолі миші (ТМ4-клітини, описані, наприклад, у Mather, Biol. Reprod., 23, 1980, сс. 243-251); клітини нирки мавпи (CV1); клітини нирки африканської зеленої мавпи (VERO-76,); клітини карциноми шийки матки людини (HELA); клітини нирки собаки (MDCK); клітини печінки бичачого щура (BRL 3A); клітини легені людини (W138); клітини печінки людини (Hep G2); клітини пухлини молочної залози миші (MMT 060562); клітини TRI, описані, наприклад, у Mather та ін., Annals N.Y. Acad. Sci., 383, 1982, сс. 44-68); клітини MRC 5 і клітини FS4. Іншими цінними лініями клітин-хазяїнів ссавців є клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), включаючи dhfr-CHO-клітини (Urlaub та ін., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 1980, с. 4216); і клітинні лінії мієломи, такі як Y0, NS0 і Sp2/0. Огляд конкретних ліній клітин-хазяїнів ссавців, які можна застосовувати для виробництва білка, див., наприклад, у Yazaki і Wu, в: Methods in Molecular Biology під ред. B.K.C. Lo, вид-во Humana Press, Totowa, NJ, т. 248, 2003, сс. 255-268. Клітини-хазяїни включають культивовані клітини, наприклад, культивовані клітини ссавців, клітини дріжджів, клітини комах, клітини бактерій і клітини рослин (але не обмежуючись тільки ними), а також клітини, що знаходяться в організмі трансгенної тварини, трансгенної рослини або культивованої рослинної або тваринної тканини. В одному з варіантів здійснення винаходу клітина-хазяїн являє собою еукаріотичну клітину, переважно клітину ссавця, таку як клітина яєчника китайського хом'ячка (CHO), клітина нирки людського ембріона (HEK) або лімфоїдна клітина (наприклад, клітина Y0, NS0, Sp20).

В даній галузі відомі стандартні технології для експресії чужорідних генів в цих системах. Клітини, що експресують поліпептид, який містить або важкий, або легкий ланцюг антигензв'язуючого домену, такого як антитіло, можна конструювати таким чином, щоб в них відбувалась експресія інших ланцюгів антитіла, наприклад, таким чином, щоб експресований продукт являв собою антитіло, яке має як важкий, так і легкий ланцюг.

Одним з варіантів здійснення винаходу є спосіб одержання активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, який полягає в тому, що культивують клітину-хазяїна, що містить полінуклеотид, що кодує активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, представлену в даному описі, в умовах, придатних для експресії активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, і виділяють активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, з клітини-хазяїна (або культурального середовища клітини-хазяїна).

Компоненти активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, генетично зливають один з одним. Активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, можна створювати Так, щоб її компоненти зливати один з одним безпосередньо або опосередковано через лінкерну послідовність. Склад і довжину лінкера можна визначати за допомогою методів, добре відомих в даній галузі, і можна оцінювати ефективність. приклади лінкерних послідовностей, розташованих між різними компонентами активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, представлені в наведених в даному описі послідовностях. Можна включати також додаткові послідовності для вбудовування сайта розщеплення, якщо потрібне розділення індивідуальних компонентів злиття, наприклад, послідовність, розпізнавану ендопептидазою.

В деяких варіантах здійснення винаходу один або декілька антигензв'язуючих фрагментів активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини містить(ять) принаймні варіабельну ділянку антитіла, яка має здатність зв'язуватись з антигенною детермінантою. Варіабельні ділянки можуть утворювати частину які зустрічаються в природніх умовах або які не

зустрічаються в природніх умовах антитіл або їх фрагментів або можуть бути одержані з них. Методи одержання поліклональних антитіл і моноклональних антитіл добре відомі в даній галузі (див., наприклад, Harlow і Lane, "Antibodies: a Laboratory Manual", вид-во Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Антитіла, що не зустрічаються в природних умовах, можна створювати за допомогою твердофазного пептидного синтезу, можна одержувати за допомогою методів рекомбінації (наприклад, описаних в US № 4186567) або можна одержувати, наприклад, шляхом скринінгу комбінаторних бібліотек, які містять варіабельні ділянки важких ланцюгів і варіабельні ділянки легких ланцюгів (див., наприклад, US № 5969108 на ім'я McCafferty).

Антитіла, фрагменти антитіл, антигензв'язуючі домени або варіабельні ділянки з будь-яких видів тварин можна застосовувати в активованих протеазою біспецифічних молекулах, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході. Прикладами антитіл, фрагментів антитіл, антигензв'язуючих доменів або варіабельних ділянок, які можна застосовувати відповідно до даного винаходу, є (але, не обмежуючись тільки ними) конструкції, одержані з організму мишей, приматів або людини. Якщо активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, призначена для застосування на людині, то можна використовувати химерну форму антитіла, в якій константні ділянки антитіла одержані з людського антитіла. Гуманізовану або повністю людську форму антитіла можна одержувати також за допомогою методів, добре відомих в даній галузі (див., наприклад, US № 5565332 на ім'я Winter). Для здійснення гуманізації можна застосовувати різноманітні методи, такі як (але, не обмежуючись тільки ними) (а) трансплантація нелюдськими (наприклад, з антитіла-донора) CDR в людську (наприклад, антитіло-реципієнт) каркасну ділянку і константні ділянки, які зберігають або не зберігають залишки каркасної ділянки, що мають вирішальне значення (наприклад, залишки, важливі для зберігання хорошої антигензв'язуючої афінності або функцій антитіла), (б) трансплантація тільки нелюдських ділянок, які визначають специфічність (SDR або a-CDR; залишки мають вирішальне значення для взаємодії антитіло-антиген) в людські каркасні і константні ділянки, або (в) трансплантація повних нелюдських варіабельних доменів, але їх "маскування" шляхом шляхом заміни поверхневих залишків, що нагадує людський сегмент. Огляд гуманізованих антитіл і методів їх одержання див., наприклад, у Almagro і Fransson, Front Biosci 13, 12008, сс. 1619-1633, і вони описані також, наприклад, у Riechmann та ін., Nature 332, 1988, сс. 323-329; Queen та ін., Proc Natl Acad Sci USA 86, 1989, сс. 10029-10033; US, №№ 5821337, 7527791, 6982321 і 7087409; Jones та ін., Nature 321, 1986, сс. 522-525; Morrison та ін., Proc Natl Acad Sci 81, 1984, сс. 6851-6855; Morrison і Oi, Adv Immunol 44, 1988, сс. 65-92; Verhoeyen та ін., Science 239, 1988, сс. 1534-1536; Padlan, Molec Immun 31(3), 1994, сс.169-217; Kashmiri та ін., Methods 36, 2005, сс. 25-34) (опис трансплантації SDR (a-CDR)); Padlan, Mol Immunol 28, 1991, сс. 489-498 (опис методу зміни поверхні ("повторне покриття")); Dall'Acqua та ін., Methods 36, 2005, сс. 43-60 (опис "перестановки FR") і Osbourn та ін., Methods 36, 2005, сс. 61-68, і Klimka та ін., Br J Cancer 83, 2000, сс. 252-260 (опис підходу на основі "цілеспрямованої селекції" для перестановки FR). Людські антитіла і людські варіабельні ділянки можна одержувати за допомогою різних методик, відомих в даній галузі. Людські антитіла описані в цілому, у van Dijk і van de Winkel, Curr Opin Pharmacol 5, 2001, сс. 368-374 і Lonberg, Curr Opin Immunol 20, 2008, сс. 450-459. Людські варіабельні ділянки можуть утворювати частину людських моноклональних антитіл або можуть бути одержані з них за допомогою методу гібридом (див., наприклад, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, вид-во Marcel Dekker, Inc., New York, 1987, сс. 51-63). Людські антитіла і людські варіабельні ділянки можна одержувати також шляхом введення імуногену трансгенній тварині, яка модифікована таким чином, що може продуктувати інтактні людські антитіла або інтактні антитіла з людськими варіабельними ділянками у відповідь на контрольне зараження антигеном (див., наприклад, Lonberg, Nat Biotech 23, 2005, сс. 1117-1125). Людські антитіла і людські варіабельні ділянки можна створювати також шляхом виділення послідовностей варіабельних ділянок Fv-клона, відібраних з людських фагових дисплейних бібліотек (див., наприклад, Hoogenboom та ін. в: Methods in Molecular Biology, під ред. O'Brien та ін., вид-во Human Press, Totowa, NJ, 178, 2001, сс. 1-37); і McCafferty та ін., Nature 348, 552-554; Clackson та ін., Nature 352, 1991, сс. 624-628). Фаг, як правило, експонує фрагменти антитіл або у вигляді одноланцюгових Fv-(scFv)-фрагментів, або у вигляді Fab-фрагментів.

В деяких варіантах здійснення винаходу антигензв'язуючі фрагменти, придатні для застосування відповідно до даного винаходу, створюють Так, щоб вони мали підвищену афінність зв'язування, наприклад, за допомогою методів, описаних в публікації заявки на патент США № 2004/0132066, повний вміст якої включено в даний опис як посилання. Здатність активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, зв'язуватись зі специфічною антигенною детермінантою, можна оцінювати кількісно

або за допомогою твердофазного ферментного аналізу (ELISA), або іншими методиками, відомими спеціалісту в даній галузі, наприклад, за допомогою методу поверхневого плазмонного резонансу (здійснюючи аналіз з використанням системи BIACORE T100) (Liljeblad та ін., Glyco J 17, 2000, сс. 323-329), і традиційних аналізів зв'язування (Heeley, Endocr Res 28, 2002, сс. 217-229). Аналізи в умовах конкуренції можна застосовувати для ідентифікації антитіла, фрагмента антитіла, антигензв'язуючого домену або варіабельного домену, конкуруючого з референс-антитілом за зв'язування з конкретним антигеном, наприклад, антитіла, яке конкурує з антитілом V9 за зв'язування з CD3. В деяких варіантах здійснення винаходу вказане конкуруюче антитіло зв'язується з тим же епітопом (наприклад, лінійним або конформаційним епітопом), з яким зв'язується референс-антитіло. Наведені як приклади детальні методи картирування епітопу, з яким зв'язується антитіло, представлені у Morris, "Epitope Mapping Protocols", в: Methods in Molecular Biology, вид-во Humana Press, Totowa, NJ, т. 66, 1996. При здійсненні наведеного як приклад аналізу в умовах конкуренції іммобілізований антиген (наприклад, CD3) інкубують в розчині, який містить перше мічене антитіло, що зв'язується з антигеном (наприклад, антитіло V9, описане в US 6054297), і і друге немічене антитіло, яке підлягає тестуванню у відношенні його здатності конкурувати з першим антитілом за зв'язування з антигеном. Друге антитіло може бути присутнім в супернатанті гібридоми. Як контроль іммобілізований антиген інкубують в розчині, який містить перше мічене антитіло, але не містить інше немічене антитіло. Після інкубації в умовах, що забезпечують зв'язування першого антитіла з антигеном, надлишок незв'язаного антитіла видаляють і оцінюють кількість мітки, асоційованої з іммобілізованим антигеном. Якщо кількість мітки, асоційованої з іммобілізованим антигеном, істотно знижено в тестованому зразку порівняно з контрольним зразком, то це свідчить про те, що друге антитіло конкурує з першим антитілом за зв'язування з антигеном (див. Harlow і Lane. Antibodies: A Laboratory Manual, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, гл. 14, 1988).

Активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, одержані за допомогою представлених в даному описі методів, можна очищати з використанням відомих в даній галузі методик, таких як рідинна хроматографія високого розрішення, іонообмінна хроматографія, гель-електрофорез, афінна хроматографія, гель-фільтрація і т.п. Фактичні умови, що застосовуються для очистки конкретного білка, залежать, зокрема, від таких факторів, як чистий заряд, гідрофобність, гідрофільність і т.д., і вони повинні бути очевидні спеціалісту в даній галузі. Для очистки антитіла за допомогою афінної хроматографії можна використовувати ліганд, рецептор або антиген, з яким зв'язується активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини. Наприклад, для очистки за допомогою афінної хроматографії активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході, можна використовувати матрикс з білком А або білком G. Наприклад, послідовне застосування афінної хроматографії на білку А або G і гель-фільтрації можна застосовувати для виділення активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, практично згідно з методом, описаним в розділі "Приклади". Чистоту активованої протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, можна визначати за допомогою будь-якого з широкої різноманітності добре відомих аналітичних методів, включаючи гель-електрофорез, рідинну хроматографію високого тиску і т.п. Наприклад, встановлено, що злиті білки. які містять важкі ланцюги, які експресували згідно описаними в розділі "Приклади" методам, є інтактними і правильно зібраними, що продемонстровано за допомогою ДСН-ПААГ у відновлюючих умовах (див., наприклад, фіг. 8-12). Розділяли три смуги, відповідні приблизно Mr 25000, Mr 50000 і Mr 75000, які відповідали передбаченим молекулярним масам легкого ланцюга, важкого ланцюга і злитому білку важкий ланцюг/легкий ланцюг активованої біспецифічної антигензв'язуючої молекули, протеазою що активує Т-клітини.

Аналізи

Активовані протеазою біспецифічні молекули, які активують Т-клітини, представлені в даному описі, можна ідентифікувати, піддавати скринінгу або характеризувати їх фізичні/хімічні властивості і/або види біологічної активності за допомогою різних аналізів, відомих в даній галузі.

Аналізи афінності

Афінність активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, до Fc-рецептора або антигена-мішені можна визначати за допомогою методів, викладених в розділі "Приклади", за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR), використовуючи стандартну інструментальну базу, наприклад, пристрій BIAcore (фірма GE Healthcare), і рецептори або білки-мішені, які можна одержувати за допомогою рекомбінантної експресії. Альтернативно цьому, зв'язування активованих протеазою біспецифічних молекул, які

активують Т-клітини з різними рецепторами або антигенами-мішенями можна оцінювати з використанням клітинних ліній, що експресують конкретний рецептор або антиген-мішень, наприклад, за допомогою протокової цитометрии (FACS). Конкретний ілюстративний і наведений як приклад варіант вимірювання афінності зв'язування описаний нижче в розділі "Приклади".

Відповідно до одного з варіантів здійснення винаходу величину K_D вимірювали методом поверхневого плазмонного резонансу за допомогою пристрою BIACORE® T100 (фірма GE Healthcare) при 25ºC.

Для аналізу взаємодії між Fc-ділянкою і Fc-рецепторами мічений за допомогою His рекомбінантний Fc-рецептор "захоплювали" за допомогою антитіла до пента-His (фірма Qiagen), іммобілізованого на CM5-чіпах, і біспецифічні конструкції застосовували як аналіти. В цілому, метод полягав у наступному: біосенсорні чіпи з карбоксиметильованого декстрану (CM5, фірма GE Healthcare) активували за допомогою гідрохлориду N-етил-N'-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду (EDC) і N-гідроксисукциніміду (NHS) згідно з інструкціями постачальника. Антитіло до пента-His розводили 10мМ ацетатом натрію, pH 5,0 до концентрації 40 мкг/мл перед ін'єкцією зі швидкістю потоку 5 мкл/хв для досягнення рівня іммобілізації, відповідної приблизно 6500 одиниць відповіді (RU) зв'язаного білка. Після ін'єкції ліганда ін'єктували 1М етаноламін для блокади непрореагованих груп. Потім здійснювали "захоплення" Fc-рецептора протягом 60 с в концентрації 4 або 10нМ. Для кінетичних вимірів ін'єктували чотирикратні серійні розведення біспецифічної конструкції (діапазон від 500 до 4000нМ) в буфері HBS-EP+ (фірма GE Healthcare, 10мМ HEPES, 150мМ NaCl, 3мМ ЕДТА, 0,05 % сурфактанта P20, pH 7,4) при 25ºC зі швидкістю потоку 30 мкл/хв протягом 120 с.

Для визначення афінності до антигена-мішені біспецифічні конструкції "захоплювали" за допомогою специфічного по відношенню до людського Fab антитіла (фірма GE Healthcare), яке іммобілізували на поверхні активованого сенсорного CM5-чіпа згідно з методом, описаним для антитіла до пента-His. Кінцева кількість зшитого білка відповідала приблизно 12000 RU. Здійснювали "захоплення" біспецифічних конструкцій протягом 90 с в концентрації 300нМ. Антигени-мішені пропускали через проточні комірки протягом 180 с в діапазоні концентрацій від 250 до 1000Нм зі швидкістю потоку 30 мкл/хв. Моніторинг дисоціації здійснювали протягом 180 с.

Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці. Відповідь на стаціонарній стадії використовували для визначення константи дисоціації (KD) за допомогою апроксимації нелінійної кривої ізотерми зв'язування Ленгмюра. Швидкість реакції асоціації (kon) і реакції дисоціації (koff) розраховували з використанням простої моделі зв'язування Ленгмюра 1:1 (програма BIACORE ® T100 Evaluation Software, версія 1.1.1) шляхом одночасної апроксимації сенсограмм асоціації і дисоціації. Константу рівноваги реакції дисоціації (KD) розраховували як співвідношення koff/kon (див., наприклад, Chen та ін., J Mol Biol 293, 1999, сс. 865-881).

Аналізи активності

Біологічну активність активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, запропонованих у винаході, можна визначати за допомогою різних аналізів, описаних в розділе "Приклади". Види біологічної активності можуть включати, наприклад, індукцію проліферації Т-клітин, індукцію передачі сигналу в Т-клітинах, індукцію експресії маркерів активації в Т-клітинах, індукцію секреції цитокінів Т-клітинами, індукцію лізису клітин-мішеней, таких як пухлинні клітини, і індукцію регресу пухлини і/або підвищення виживаності.

Композиції, препаративні форми і шляхи введення

Наступним об'єктом винаходу є фармацевтичні композиції, що містять будь-яку з активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, представлених в даному описі, наприклад, призначені для застосування в будь-якому із вказаних нижче терапевтичних способів. В одному з варіантів здійснення винаходу фармацевтична композиція містить будь-яку з активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, представлених в даному описі, і фармацевтично прийнятний носій. В іншому варіанті здійснення винаходу фармацевтична композиція містить будь-яку з активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, представлених в даному описі, і принаймні один додатковий терапевтичний засіб, наприклад, вказаний нижче.

Крім того, представлений спосіб одержання активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, в формі, придатної для введення in vivo, який полягає в тому, що (а) одержують активовану протеазою біспецифічну молекулу, яка активує Т-клітини, запропоновану у винаході, і (б) об'єднують в препаративній формі активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, принаймні з одним фармацевтично

прийнятним носієм, де одержаний препарат активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, придатний для застосування in vivo.

Фармацевтичні композиції, запропоновані в даному винаході, містять в терапевтично ефективній кількості одну або декілька активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, яка(і) розчинена(і) або диспергована(і) в фармацевтично прийнятному носії. Поняття "фармацевтично або фармакологічно прийнятний" відноситься до молекулярних субстанцій та композицій, які, в цілому, нетоксичні для реципієнтів в застосовуваних дозах і концентраціях, тобто не викликають шкідливі, алергічні або інші небажані реакції при введенні за необхідності тварині, такій, наприклад, як людина. Приготування фармацевтичної композиції, яка містить принаймні одну активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, і необов'язково додаткову діючу речовину, має бути очевидно спеціалістам в даній галузі в світлі даного опису, наприклад, з довідника Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е вид., вид-во Mack Printing Company, 1990, включеного в даний опис як посилання. Крім того, очевидно, що препарати, призначені для введення тварині (наприклад, людині), повинні задовольняти вимогам стандартів стерильності, пірогенності і загальної безпеки і чистоти, розроблених відділенням біологічних стандартів FDA (Управління контролю харчових продуктів і лікарських засобів) або відповідним уповноваженим органом інших країн. Переважними композиціями є ліофілізовані препаративні форми або водні розчини. В контексті даного опису "фармацевтично прийнятний носій" включає будь-які і всі розчинники, буфери, дисперсійні середовища, покриття, поверхнево-активні речовини, антиоксиданти, консерванти (наприклад, антибактеріальні агенти, протигрибкові агенти), агенти для додання ізотонічності, агенти, що пригнічують абсорбцію, солі, білки, лікарські засоби, стабілізатори лікарських засобів, полімери, гелі, сполучні речовини, наповнювачі, розпушувачі, замаслювачі, підсолоджуючі речовини, коригенти, барвники і подібні матеріали і їх комбінації, які повинні бути відомі звичайному спеціалісту в даній галузі (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е вид., вид-во Mack Printing Company, 1990, сс. 1289-1329, включений в даний опис у як посилання). В терапевтичних або фармацевтичних композиціях можна застосовувати будь-який загальноприйнятий носій, за винятком тих випадків, коли він несумісний з діючою речовиною.

Композиція може містити різні типи носіїв в залежності від того, чи запроваджують її у твердій, рідкій або аерозольній формі, і від того, чи повинна вона бути стерильною, як у випадку використання таких шляхів введень, як ін'єкція. Активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані в даному винаході (і будь-який додатковий терапевтичний засіб), можна вводити внутрішньовенно, внутрішньошкірно, внутрішньоартеріально, внутрибрюшинно, всередину пошкодження, всередину черепа, всередину суглоба, всередину передміхурової залози, всередину селезінки, внутрішньоренально, внутрішньоплеврально, внутрішньотрахеально, внутрішньоназально, всередину склоподібного тіла, внутрішньовагінально, внутрішньоректально, всередину пухлини, внутрішньом'язово, внутрішньочеревно, підшкірно, підкон'юнктивально, інтравезікулярно, в слизову оболонку, інтраперикардіально, всередину пуповини, інтраокулярно, орально, топікального, місцево, шляхом інгаляції (наприклад, аерозольної інгаляції), ін'єкції, інфузії, безперервної інфузії, локалізованої перфузії, що омиває безпосередньо клітини-мішені, через катетер, за допомогою лаважу, у вигляді кремів, в ліпідних композиціях (наприклад, ліпосоми), або за допомогою будь-якого іншого методу або будь-якої комбінації вищевказаних шляхів, відомих звичайному спеціалісту в даній галузі (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е вид., вид-во Mack Printing Company, 1990., включений в даний опис як посилання). Для введення молекул поліпептидів, таких як активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, найбільш часто застосовують парентеральне введення, зокрема, внутрішньовенну ін'єкцію.

Парентеральні композиції включають композиції, створені для введення шляхом ін'єкції, наприклад, підшкірної, внутрішньошкірної, всередину пошкодження, внутрішньовенної, внутрішньоартеріальної, внутрішньом'язової, підоболонкової або внутрішньочеревної ін'єкції. Для ін'єкції активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна включати в препаративні форми у вигляді водних розчинів, переважно у фізіологічно сумісних буферах, таких як розчин Хенкса, розчин Рінгера або фізіологічний соляний буфер. Розчин може містити призначені для одержання препаративної форми агенти, такі як суспендуючі, стабілізуючі і/або диспергуючі агенти. Альтернативно цьому, активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини можуть перебувати в порошкоподібній формі, призначеній для відновлення перед застосуванням прийнятним наповнювачем, наприклад, стерильною водою, яка не містить пірогенів. Стерильні ін'єковані розчини готують шляхом включення активованих протеазою біспецифічних молекул, які

активують Т-клітини, запропонованих у винаході, в необхідній кількості у відповідний розчинник за необхідності в поєднанні з різними іншими інгредієнтами, що вказані нижче. Стерильність можна легко забезпечувати, наприклад, шляхом фільтрації через стерильні фільтруючі мембрани. Як правило, дисперсії отримують шляхом включення різних стерилізованих діючих речовин в стерильний наповнювач, який містить основне дисперсійне середовище і/або інші інгредієнти. У випадку стерильних порошків для одержання стерильних ін'єкованих розчинів, суспензій або емульсій переважними методами отримання є вакуумне сушіння або сушіння виморожуванням, які дозволяють одержувати порошок діючої речовини в поєднанні з будь-яким додатковим необхідним інгредієнтом з попередньо стерилізованим фільтрацією рідкого середовища. За необхідності рідке середовище перед здійсненням ін'єкції може бути відповідним чином забуферене і рідкому розріджувачу спочатку надана ізотонічність за допомогою достатньої кількості соляного розчину або глюкози. Композиція повинна бути стабільною в умовах приготування і зберігання і захищена від забруднюючої дії мікроорганізмів, таких як бактерії і гриби. Прийнято підтримувати забруднення ендотоксинами на мінімальному безпечному рівні, наприклад, менше 0,5 нг/мг білка. Придатні фармацевтично прийнятні носії включають (але, не обмежуючись тільки ними): буфери, такі як фосфатний, цитратний і буфери на основі інших органічних кислот; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту та метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламмонійхлорид; гексаметонійхлорид; бензалконійхлорид; бензетонійхлорид; фенол, бутиловий або бензиловий спирт; алкілпарабени, такі як метил або пропілпарабен; катехол, резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол і мета-крезол); низькомолекулярні (містять менше приблизно 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші вуглеводи, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, такі як ЕДТА; цукри, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворюючі противоіони, такі як натрій; комплекси з металами (наприклад, комплекси Zn-білок); і/або неіоногенні поверхнево-активні речовини, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ). Водні суспензії для ін'єкцій можуть містити сполуки, які підвищують в'язкість суспензії, такі як натрієва сіль карбоксиметилцелюлози, сорбіт, декстран або т.п. Необов'язково суспензія може містити також стабілізатори або агенти, які підвищують розчинність сполук, що дозволяє одержувати висококонцентровані розчини. Крім того, суспензії діючих речовин можна одержувати у вигляді відповідних масляних призначених для ін'єкції суспензій. Прийнятні ліпофільні розчинники або наповнювачі включають жирні нелеткі олії, такі як кунжутне масло, або синтетичні ефіри жирних кислот, такі як етилолеат або тригліцериди, або ліпосоми…

Діючі речовини можна укладати в мікрокапсули, наприклад, одержані за допомогою методів коацервації або міжфазної полімеризації, наприклад в гідроксипропілметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули і полі (метилметакрилатні) мікрокапсули відповідно, в колоїдні системи введення лікарського засобу (наприклад, в ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії. Такі методи описані в Remington's Pharmaceutical Sciences, під ред. A. Osol, 1980. Можна готувати препарати з уповільненим вивільненням. Прийнятними прикладами препаратів з уповільненим вивільненням є напівпроникні матриці з твердих гідрофобних полімерів, які включають поліпептид, такі матриці являють собою вироби певної форми, наприклад, плівки або мікрокапсули. В конкретному варіанті здійснення винаходу для досягнення пролонгованої абсорбції ін'єктовані композиції можна застосовувати в композиції агенти, що пригнічують абсорбцію, такі, наприклад, як моностеарат алюмінію, желатин або їх комбінації.

Крім описаних вище композицій, активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, можна готувати також у вигляді препарату в формі депо. Зазначені препаративні форми тривалої дії можна застосовувати шляхом імплантації (наприклад, підшкірної або внутрішньом'язової) або внутрішньом'язової ін'єкції. Так, наприклад, активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, можна включати в препаративні форми в поєднанні з прийнятними полімерними або гідрофобними матеріалами (наприклад, у вигляді емульсії в прийнятній олії) або іонообмінні смоли, або у вигляді помірно розчинних похідних, наприклад, помірно розчинної солі…

Фармацевтичні композиції, що містять активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна готувати за допомогою загальноприйнятих процесів змішання, розчинення, емульгування, капсулювання, захоплення або ліофілізації. Фармацевтичні композиції можна включати в препаративні форми за допомогою загальноприйнятого методу з використанням одного або декількох фізіологічно прийнятних носіїв, розріджувачів, наповнювачів або допоміжних речовин, які полегшують

обробку білків, з одержанням препаратів, які можна застосовувати в фармацевтичних цілях. Відповідна форма залежить від обраного шляху введення.

Активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, можна включати в композиції у вигляді вільної кислоти або вільної основи, в нейтральній формі або у формі солі. Фармацевтично прийнятні солі являють собою солі, які практично зберігають біологічну активність вільної кислоти або вільної основи. Вони включають кислотно-адитивні солі, наприклад, солі, утворені з вільними аміногрупами білкової композиції, або утворені з неорганічними кислотами, такими, наприклад, як соляна або фосфорна кислота, або такими органічними кислотами, як оцтова, щавлева, винна чи мигдальна кислота. Солі, утворені з вільною карбоксильною групою, можна одержувати також з неорганічних основ, таких, наприклад, як гідроксиди натрію, калію, амонію, кальцію або заліза; або таких органічних основ як ізопропіламін, триметиламін, гістидин або прокаїн. Фармацевтичні солі мають тенденцію до більш високої розчинності у водних та інших протонних розчинниках порівняно з відповідними формами у вигляді вільних основ.

Способи і композиції для терапевтичного застосування

Будь-яку з активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, представлених в даному описі, можна застосовувати в терапевтичних способах. Активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна використовувати як імунотерапевтичні агенти, наприклад, при лікуванні різних видів раку.

Для застосування в терапевтичних способах активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна включати до складу препаративних форм, дозувати і вводити відповідно до належної клінічної практики. Розглянуті в цьому контексті фактори включають конкретне порушення, яке підлягає лікуванню, конкретний ссавець, яке підлягає лікуванню, клінічний стан індивідуального пацієнта, причину захворювання, ділянку введення агента, метод введення, схему введення та інші фактори, відомі практикуючим медикам.

Одним з об'єктів винаходу є активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, призначені для застосування як лікарський засіб. Наступними об'єктами винаходу є активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, призначені для застосування при лікуванні захворювання. Деякими варіантами здійснення винаходу є активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, призначені для застосування в способі лікування. Одним з варіантів здійснення винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, представлена в даному описі, призначена для застосування при лікуванні захворювання в індивідуума, що потребує цього. Деякими варіантами здійснення винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, призначена для застосування в способі лікування індивідуума, що має захворювання, який включає індивідууму в терапевтично ефективній кількості активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини. В деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою проліферативне порушення. В конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання являє собою рак. В деяких варіантах здійснення винаходу спосіб включає також введення індивідууму в терапевтично ефективній кількості принаймні одного додаткового терапевтичного засобу, наприклад, протиракового засобу, якщо захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою рак. Додатковими варіантами здійснення винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, представлена в даному описі, призначена для застосування з метою індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини. Деякими варіантами здійснення винаходу є активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, призначена для застосування в способі індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини, в індивідуума, що включає введення індивідууму в ефективній кількості активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини для індукції лізису клітини-мішені. "Індивідуум" в контексті будь-якого з вищевказаних варіантів здійснення винаходу є ссавцем, переважно людини.

Наступним об'єктом винаходу є застосування активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, запропонованої у винаході, для виробництва або приготування лікарського засобу. В одному з варіантів здійснення винаходу лікарський засіб призначений для лікування захворювання в індивідуума, який потребує цього. В одному з варіантів здійснення винаходу лікарський засіб призначений для застосування в способі лікування захворювання, який включає індивідууму, що має захворювання, в терапевтично ефективній кількості лікарського засобу. В деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою проліферативне порушення. В конкретному варіанті здійснення

винаходу захворювання являє собою рак. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб включає також введення індивідууму в терапевтично ефективній кількості принаймні одного додаткового терапевтичного засобу, наприклад, протиракового засобу, якщо захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою рак. В іншому варіанті здійснення винаходу лікарський засіб призначений для індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини. В наступному варіанті здійснення винаходу лікарський засіб призначений для застосування в способі індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини, в індивідуума, що включає введення індивідууму в ефективній кількості лікарського засобу для індукції лізису клітини-мішені. "Індивідуум" в контексті будь-якого з вищевказаних варіантів здійснення винаходу є ссавцем, переважно людини.

Наступним об'єктом винаходу є спосіб лікування захворювання. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб включає введення індивідууму, що має вказане захворювання, в терапевтично ефективній кількості активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, запропонованої у винаході. В одному з варіантів здійснення винаходу вказаному індивідууму вводять композицію, яка містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, в фармацевтично прийнятній формі. В деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою проліферативне порушення. В конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання являє собою рак. В деяких варіантах здійснення винаходу спосіб включає також введення індивідууму в терапевтично ефективній кількості принаймні одного додаткового терапевтичного засобу, наприклад, протиракового засобу, якщо захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою рак. "Індивідуум" в контексті будь-якого з вищевказаних варіантів здійснення винаходу може бути ссавцем, переважно людиною.

Наступним об'єктом винаходу є спосіб індукції лізису клітини-мішені, зокрема, пухлинної клітини. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб включає приведення в контакт клітини-мішені з активованою протеазою біспецифічною молекулою, яка активує Т-клітини, запропонованої у винаході, в присутності Т-клітини, зокрема, цитотоксичної Т-клітини. Іншим об'єктом винаходу є спосіб індукції лізису клітини-мішені, зокрема, пухлинної клітини. в одному з вказаних варіантів здійснення винаходу спосіб включає введення індивідууму в ефективній кількості активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини для індукції лізису клітини-мішені. В одному з варіантів здійснення винаходу "індивідуум" являє собою людини.

В деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, яке підлягає лікуванню, являє собою проліферативне порушення, насамперед рак. Прикладами раку є (але, не обмежуючись тільки ними) рак сечового міхура, рак головного мозку, рак голови і шиї, рак підшлункової залози, рак легені, рак молочної залози, рак яєчника, рак матки, рак шийки матки, рак ендометрію, рак стравоходу, рак ободової кишки, колоректальний рак, ректальний рак, рак шлунка, рак передміхурової залози, рак крові, рак шкіри, плоскоклітінна карцинома, рак кістки і рак нирки. інші порушення клітінної проліферації, які можна лікувати з використанням активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, запропонованої в даному винаході, включають (але, не обмежуючись тільки ними) неоплазми, локалізовані в: животі, кістці, молочній залозі, травній системі, печінці, підшлунковій залозі, очеревині, ендокринних залозах (наднирник, паращитовидная, гіпофіз, яєчка, яєчник, тимус, щитовидна залоза), оці, голові и шиї, нервовій системі (центральній и периферичної), лімфатичної системи, тазової ділянки, шкірі, м'якої тканини, селезінці, грудному відділі и сечостатевій системі. також під обсяг винаходу підпадають передракові стани або пошкодження і метастази раку. В деяких варіантах здійснення винаходу рак вибирають з групи, що включає нирковоклітинний рак, рак шкіри, рак легені, колоректальний рак, рак молочної залози, рак головного мозку, рак голови и шиї. Спеціалісту в даній Галузі має буті очевидно, что у багатьох випадкуактивована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, не може забезпечувати зцілення, а може тільки чинити частковий сприятливий вплив. В деяких варіантах здійснення винаходу фізіологічні зміни, які характеризуютьс деякою сприятливою дією, розглядаються також як терапевтично цінні. Таким чином, в деяких варіантах здійснення винаходу кількість активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, яку забезпечує фізіологічну зміну, розглядається як "ефективна кількість" або "терапевтично ефективна кількість". Суб'єкт, пацієнт або індивідуум, який має потребу влікуванні, є, як правило, ссавцем, більш конкретно людиною.

В деяких варіантах здійснення винаходу активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, вводять в ефективній кількості в клітину. В інших варіантах здійснення винаходу активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, вводять в терапевтично ефективній кількості індивідууму

для лікування захворювання.

Для попередження або лікування захворювання відповідна доза активованої протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, запропонованої у винаході (при її застосуванні індивідуально або в поєднанні з одним або декількома іншими додатковими терапевтичними засобами), повинна залежати від типу захворювання, що підлягає лікуванню, шляхи введення, ваги тіла пацієнта, типу біспецифічної антигензв'язуючої молекули, що активує Т-клітини, серйозності і перебігу захворювання, від того, чи вводять біспецифічну антигензв'язуючу молекулу, що активує Т-клітини в превентивних або терапевтичних цілях, попередніх або здійснюваних одночасно терапевтичних втручань, історії захворювання пацієнта і відповіді на активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, і приписи лікуючого лікаря. Практикуючий спеціаліст, відповідальний за введення, в будь-якому випадку, повинен визначати концентрацію діючої(их) речовини в композиції і відповідну(і) дозу(и) для індивідуального пацієнта. Різноманітні схеми введення доз включають (але, не обмежуючись тільки ними) одноразове введення або декілька введень в різноманітні моменти часу, болюсне введення і пульсуючу інфузію.

Активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини можна вводити пацієнту у вигляді однієї обробки або серій обробок. Залежно від типу і серйозності захворювання можлива початкова доза активованої протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини для введення, пацієнту, наприклад, з використанням одного або декількох індивідуальних введень або за допомогою непреривної інфузії, може складати приблизно від 1 мкг/кг до 15 мг/кг (наприклад, 0,1-10 мг/кг). Типова добова доза може складати від приблизно 1 мкг/кг до 100 мг/кг або більше залежно від зазначених вище факторів. Для повторних введень протягом декількох днів або більше тривалого періоду залежно від стану лікування, як правило, має продовжуватись до досягнення потрібного придушення наявних симптомів захворювання. Як приклад, доза активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини може складати від приблизно 0,005 до приблизно 10 мг/кг. В іншому прикладі (але, не обмежуючись тільки зазначеним) доза на одне введення може складати від приблизно 1, приблизно 5, приблизно 10, приблизно 50, приблизно 100, приблизно 200, приблизно 350, приблизно 500 мкг/кг ваги тіла, приблизно 1, приблизно 5, приблизно 10, приблизно 50, приблизно 100, приблизно 200, приблизно 350, приблизно 500 до приблизно 1000 мг/кг ваги тіла або більше, і знаходиться в будь-якому зазначеному діапазоні. Як приклади (але, не обмежуючись тільки ними) вказаного діапазону значень, можна вводити від приблизно 5 до приблизно 100 мг/кг ваги тіла, від приблизно 5 мкг/кг ваги тіла до приблизно 500 мг/кг ваги тіла і т.д. із врахуванням вищевказаних рівней доз. Так, пацієнту можна вводити одну або декілька доз, які складають приблизно 0,5, 2,0, 5,0 або 10 мг/кг (або будь-яку їх комбінацію). Вказані дози можна вводити переривчасто, наприклад, щотижня або кожні три тижні (наприклад, Таким чином, щоб пацієнт одержував від приблизно двох до приблизно двадцяти або, наприклад, приблизно шість доз активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини). Можна вводити початкову більш високу ударну дозу, після якої застосовувати одну або декілька більш низьких доз. Проте можна використовувати інші схеми введення доз. Успіх такої терапії легко оцінювати за допомогою загальноприйнятих методик і аналізів.

Активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, як правило, слід застосовувати в кількості, ефективній для досягнення поставленої цілі. При застосуванні для лікування або попередження хворобливого стану активовані протеазою біспецифічні молекули, які активують Т-клітини, запропоновані у винаході, або їх фармацевтичні композиції, вводять або застосовують в терапевтично ефективній кількості. Визначення терапевтично ефективної кількості знаходиться в компетенції спеціалістів в даній галузі, насамперед в світлі представленого детального опису винаходу.

Для системного введення терапевтично ефективну дозу можна спочатку визначати за допомогою аналізів in vitro, наприклад, аналізів з використанням клітинних культур. Потім дозу можна включати в форму для вивчення на тваринних моделях для досягнення концентрації в кровотоці, що знаходиться в діапазіне, що включає значення IC_{50}, визначене на клітинній культурі. Вказану інформацію можна використовувати для більш точного визначення доз, які можна застосовувати на людях.

Початкові дози можна оцінювати також, виходячи з даних, отриманих in vivo, наприклад, на тваринних моделях, використовуючи методики, добре відомі в даній галузі. Звичайний спеціаліст в даній галузі легко може оптимізувати застосування на людях на основі даних, отриманих на тваринах.

Рівень доз та інтервал можна регулювати індивідуально для одержання рівней в плазмі активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, що є достатніми для

підтримання терапевтичної дії. Звичайні дози, призначені для введення пацієнту шляхом ін'єкції, складають від приблизно 0,1 до 50 мг/кг/день, як правило, від приблизно 0,5 до 1 мг/кг/день. Для досягнення терапевтично ефективних рівней в плазмі можна вводити декілька доз щодня. Рівні в плазмі можна оцінювати, наприклад, за допомогою РХВР.

У випадках місцевого застосування або вибіркового поглинання ефективна місцева концентрація активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, може не відповідати концентрації в плазмі. Спеціаліст в даній галузі може оптимізувати терапевтично ефективні місцеві дози без надмірних експериментів.

Застосування в терапевтично ефективній дозі активованих протеазою біспецифічних молекул, які активують Т-клітини, представлених в даному описі, повинне, як правило, забезпечувати терапевтичну користь, не викликаючи суттєвої токсичності. Токсичність і терапевтичну ефективність активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини можна визначати за допомогою стандартних фармацевтичних процедур на культурах клітин або експериментальних тварин. Аналізи на клітинних культурах або досліди на тваринах можна застосовувати для визначення значень LD_{50} (доза, смертельна для 50 % популяції) і ED_{50} (доза, терапевтично ефективна для 50 % популяції). Співвідношення доз, що характеризують токсичну і терапевтичну дії, позначають як терапевтичний індекс, який можна виражати у вигляді співвідношення LD_{50}/ED_{50}. Активовані протеазою біспецифічні молекули, які активують Т-клітини, що мають високі терапевтичні індекси, є переважними. В одному з варіантів здійснення винаходу активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, запропонована в даному винаході, характеризується високим терапевтичним індексом. Дані, одержані в аналізах з використанням клітинних культур і в дослідах на тваринах, можна застосовувати для визначення діапазону доз, які можна застосовувати на людях. Доза лежить переважно в діапазоні концентрацій в кровотоці, що включають ED_{50}, мають невисоку токсичність або не мають токсичність. Доза може варіюватись залежно від різних факторів, наприклад, від застосовуваної лікарської форми, запо відношенню до шляху введення, стану індивідуума і т.п. Точну препаративну форму, шлях введення і дозу може вибирати індивідуально лікар залежно від стану пацієнта (див., наприклад, Fingl та ін. в: The Pharmacological Basis of Therapeutics, гл. 1, 1975, с. 1, публікація повністю включена в даний опис як посилання).

Лікарю пацієнтів, яким вводять активовані протеазою біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, має бути очевидно, як і коли закінчувати, переривати або регулювати введення через токсичність, дисфункції органів і т.п. і, навпаки, лікарю має бути очевидно, як регулювати лікування в бік застосування більш високих доз, якщо клінічна відповідь є неадекватною (попереджуючи при цьому токсичність). Величина введеної дози при лікуванні порушення, що представляє інтерес, повинна варіюватись залежно від серйозності стану, що підлягає лікуванню, шляху введення і т.п. Серйозність стану можна, наприклад, оцінювати поміж іншим за допомогою стандартних прогностичних методів оцінки. Крім того, доза і передбачувана частота введення дози повинні також варіюватись залежно від віку, ваги тіла і відповіді індивідуального пацієнта.

Інші засоби та варіанти лікування

Активовані протеазою біспецифічні молекули, які активують Т-клітини, запропоновані у винаході, при лікуванні можна вводити в поєднанні з одним або декількома іншими засобами. Наприклад, активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході, можна вводити спільно принаймні з одним додатковим терапевтичним засобом. Поняття "терапевтичний засобів" включає будь-який засіб, який вводять для лікування симптому або захворювання в індивідуума, що має потребу в такому лікуванні. Вказаний додатковий терапевтичний засіб може являти собою будь-яку діючу речовину, яку можна застосовувати при конкретному показанні, що підлягає лікуванню, переважно з додатковими видами активності, які не чинять негативний вплив одна на одну. В деяких варіантах здійснення винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою імуномодулятор, цитостатичний засіб, інгібітор клітинної адгезії, цитотоксичний засіб, активатор клітинного апоптозу або засіб, що підвищує чутливість клітин до індукторів апоптозу. В конкретному варіанті здійснення винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою протираковий засіб, наприклад, агент, що руйнує мікротрубочки, антиметаболіт, інгібітор топоізомерази, інтеркалятор ДНК, алкілуючий агент, засіб гормональної терапії, інгібітор кіназ, антагоніст рецептора, активатор апоптозу пухлинних клітин або антиангіогенний засіб.

Вказані інші засоби можуть бути присутніми в комбінації в кількостях, ефективних для вказаних цілей. Ефективна кількість вказаних інших засобів залежить від кількості застосовуваної активованої протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, типу

порушення або лікування, та інших вищевказаних факторів. Активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, як правило, застосовують в таких же дозах і з використанням вказаних в даному описі шляхів введення, або в дозах, які складають приблизно від 1 до 99 % від вказаних в даному описі доз, або в будь-який дозі і з використанням будь-якого шляху введення, які відповідно до емпіричних/клінічних даних розглядаються як прийнятні.

Зазначені вище комбіновані терапії передбачають спільне введення (коли два або більша кількість терапевтичних засобів включають в одну і ту ж або в окремі композиції) і роздільне введення, в цьому випадку введення активованою протеазою біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини, запропонованої у винаході, можна здійснювати до, одночасно і/або після введення додаткового терапевтичного засобу і/або ад'юванта. Активовані протеазою біспецифічні молекули, які активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна застосовувати також в поєднанні з променевою терапією.

Вироби

Іншим об'єктом винаходу є виріб, який містить продукти, що застосовуються для лікування, попередження і/або діагностування зазначених вище порушень. Виріб являє собою контейнер і етикетку або листівку-вкладиш в упаковку, яка розміщена на контейнері або додаються до нього. Прийнятними контейнерами є, наприклад банки, бульбашки, шприци, пакети для внутрішньовенного (IV) розчину і т.д. Контейнери можна виготовляти з різних матеріалів, таких як скло або пластмаса. Контейнер містить композицію, яка сама по собі або в поєднанні з іншою композицією є ефективною для лікування, попередження і/або діагностування стану, і може мати стерильний порт доступу (наприклад, контейнер може являти собою пакет для внутрішньовенного розчину або пляшечку, оснащену пробкою, яку можна проколювати за допомогою голки для підшкірних ін'єкцій). Принаймні одна діюча речовина в композиції являє собою активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході. На етикетці або листівці-вкладиші в упаковку зазначено, що композицію застосовують для лікування вибраного стану. Крім того, виріб може включати (а) перший контейнер з композицією, що знаходиться в ньому, де композиція містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, запропоновану у винаході; і (б) другий контейнер з композицією, що знаходиться в ньому, де композиція містить додатковий цитотоксичний або інший терапевтичний засіб. Відповідно до цього варіанта здійснення винаходу виріб може містити листівку-вкладиш в упаковку, яка містить інформацію про те, що композиції можна використовувати для лікування конкретного стану. В альтернативному або додатковому варіанті виріб може додатково включати другий (або третій) контейнер з фармацевтично прийнятним буфером, таким як бактеріостатична вода для ін'єкцій (БСВІ), забуферений фосфатом фізіологічний розчин, розчин Рінгера і розчин декстрози. Крім того, воно може включати інші матеріали, необхідні з комерційної точки зору і з точки зору користувача, зокрема, інші буфери, розчинники, фільтри, голки і шприци.

Приклади варіантів здійснення винаходу

1. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить

(а) перший антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3;

(б) другий антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені; і

(в) маскуючий фрагмент, ковалентно приєднаний до біспецифічної молекули, що зв'язує Т-клітини, через розщеплюваний протеазою лінкер, де маскуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з ідіотипом першого або другого антигензв'язуючого фрагмента, тим самим оборотно приховуючи перший або другий антигензв'язуючий фрагмент.

2. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 1, в якій маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до першого антигензв'язуючого фрагмента і оборотно приховує перший антигензв'язуючий фрагмент.

3. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 1 або 2, в якій маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки важкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента.

4. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 1 або 2, в якій маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки легкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента.

5. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-4, в якій маскуючий фрагмент являє собою антиідіотиповий scFv.

6. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 2-5, де активована протеазою біспецифічна молекула, що

активує Т-клітини, містить другий маскуючий фрагмент, що оборотно приховує другий антигензв'язуючий фрагмент.

7. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-6, де протеаза експресується клітиною-мішенню.

8. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-7, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені.

9. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-8, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, в якій константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обмінені.

10. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-9, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою канонічну молекулу Fab.

11. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-10, що містить не більше одного антигензв'язуючого фрагмента, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3.

12. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-11, що містить третій антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені.

13. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 12, в якій третій антигензв'язуючий фрагмент ідентичний другому антигензв'язуючому фрагменту.

14. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-13, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 або HER1.

15. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-13, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, обраним з групи, яка складається з FolR1, HER1 і мезотеліну.

16. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-13, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, обраним з групи, яка складається з FolR1, HER1, HER2 і мезотеліну.

17. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-16, в якій перший і другий антигензв'язуючі фрагменти злиті один з одним необов'язково через пептидний лінкер.

18. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-17, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента.

19. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-17, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента.

20. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-19, в якій легкий ланцюг Fab першого антигензв'язуючого фрагмента і легкий ланцюг Fab іншого антигензв'язуючого фрагмента злиті один з одним, необов'язково через пептидний лінкер.

21. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-20, додатково що містить Fc-домен, що складається з першої і другої субодиниць, які мають здатність до стабільної асоціації.

22. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 21, в якій Fc-домен являє собою Fc-домен IgG, зокрема, IgG_1 або IgG_4.

23. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 21 або 22, в якій Fc-домен являє собою людський Fc-домен.

24. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 21-23, в якій Fc-домен характеризується зниженою афінністю зв'язування з Fc-рецептором і/або зниженою ефекторною функцією порівняно з нативним Fc-доменом IgG_1.

25. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 24, в якій Fc-домен містить одну або декілька амінокислотних замін, які знижують зв'язування з Fc-рецептором і/або ефекторну функцію.

26. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 25, в якій вказана(і) одна або декілька амінокислотна(і) заміна(і) знаходиться(яться) в одному або декількох положенні(ях), вибраній(їх) з групи L234, L235 і P329 (нумерація за Кеботом).

27. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 26, в якій кожна субодиниця Fc-домену містить три амінокислотні заміни, які знижують зв'язування з активуючим Fc-рецептором і/або ефекторну функцію, де вказані амінокислотні заміни являють собою L234A, L235A і P329G.

28. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 24-27, де Fc-рецептор являє собою Fcγ-рецептор.

29. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 24-28, де ефекторна функція являє собою антитіло-обумовлену клітинозалежну цитотоксичність (ADCC).

30. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-29, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22).

31. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-30, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

32. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-31, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

33. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-29, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28).

34. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-29 і 33, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

35. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-29 і 33-34, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1

SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

36. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-35, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 dyyin (SEQ ID NO: 48);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 vinpdsggtdynqnfkr (SEQ ID NO: 49); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 rdsygfdy (SEQ ID NO: 50).

37. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-36, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 kaslsvtndva (SEQ ID NO: 51);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 yasnrna (SEQ ID NO: 52); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 qqdytsppt (SEQ ID NO: 53).

38. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-37, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 dyyin (SEQ ID NO: 48);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 vinpdsggtdynqnfkr (SEQ ID NO: 49);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 rdsygfdy (SEQ ID NO: 50); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 kaslsvtndva (SEQ ID NO: 51);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 yasnrna (SEQ ID NO: 52); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 qqdytsppt (SEQ ID NO: 53).

39. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-38, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить принаймні одну розпізнавану протеазою послідовність.

40. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 39, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність.

41. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 40, в якій розпізнавана протеазою послідовність вибрана з групи, що складається з:

(а) RQARVVNG (SEQ ID NO: 36);

(б) VHMPLGFLGPGRSRGSFP (SEQ ID NO: 37);

(в) RQARVVNGXXXXXVPLSLYSG (SEQ ID NO: 38); і

(г) RQARVVNGVPLSLYSG (SEQ ID NO: 39);

(д) plglwsq (SEQ ID NO: 40), де X позначає будь-яку амінокислоту.

42. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 40, в якій розпізнавана протеазою послідовність вибрана з групи, що складається з:

(а) RQARVVNG (SEQ ID NO: 36);

(б) VHMPLGFLGPGRSRGSFP (SEQ ID NO: 37);

(в) RQARVVNGXXXXXVPLSLYSG (SEQ ID NO: 38);

(г) RQARVVNGVPLSLYSG (SEQ ID NO: 39);

(д) plglwsq (SEQ ID NO: 40);

(е) VHMPLGFLGPRQARVVNG (SEQ ID NO: 97);

(ж) FVGGTG (SEQ ID NO: 98);

(з) KKAAPVNG (SEQ ID NO: 99);

(і) PMAKKVNG (SEQ ID NO: 100);

(к) QARAKVNG (SEQ ID NO: 101);
(л) VHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 102);
(м) QARAK (SEQ ID NO: 103);
(н) VHMPLGFLGPPMAKK (SEQ ID NO: 104);
(о) KKAAP (SEQ ID NO: 105); і
(п) PMAKK (SEQ ID NO: 106), де X позначає будь-яку амінокислоту.

43. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 39 або 40, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36).

44. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 39 або 40, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність VHMPLGFLGPRQARVVNG (SEQ ID NO:97).

45. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 39 або 40, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36) або розпізнавану протеазою послідовність VHMPLGFLGPRQARVVNG (SEQ ID NO: 97).

46. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-45, де протеаза вибрана з групи, що складається з металопротеїнази, серинової протеази, цистеїнової протеази, аспарагінової протеази і протеази катепсину.

47. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 46, де металопротеїназа являє собою матричну металопротеїназу (MMP), переважно MMP9 або MMP2.

48. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за варіантом здійснення винаходу 46, де серинова протеаза являє собою матриптазу.

49. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 і SEQ ID NO: 46, принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

50. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-49, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 TYAMN (SEQ ID NO: 44);
(б) амінокислотну послідовність CDR H2 RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO: 45); і
(в) амінокислотну послідовність CDR H3 HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 46); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:
(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 17);
(д) амінокислотну послідовність CDR L2 GTNKRAP (SEQ ID NO: 18); і
(е) амінокислотну послідовність CDR L3 ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 19).

51. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-50, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

52. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-50, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

53. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 і SEQ ID NO: 16, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибраний з групи: SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19.

54. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-53, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 NAWMS (SEQ ID NO: 14);

б) амінокислотну послідовність CDR H2 RIKSKTDGGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 15); і

в) амінокислотну послідовність CDR H3 PWEWSWYDY (SEQ ID NO: 16); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 17);

д) амінокислотну послідовність CDR L2 GTNKRAP (SEQ ID NO: 18); і

е) амінокислотну послідовність CDR L3 ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 19).

55. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-54, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55.

56. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-54, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

57. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152 і SEQ ID NO: 153, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибраний з групи: SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155 і SEQ ID NO: 156.

58. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52 або 57, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYYMH (SEQ ID NO: 151);

б) амінокислотну послідовність CDR H2 IINPSGGSTSYAQKFQГ (SEQ ID NO: 152); і

в) амінокислотну послідовність CDR H3 SFFTGFHLDY (SEQ ID NO:153); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 154);

д) амінокислотну послідовність CDR L2 GASSRAT (SEQ ID NO: 155); і

е) амінокислотну послідовність CDR L3 QQYTNEHYYT (SEQ ID NO: 156).

59. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52, 57 або 58, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 158.

60. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52 або 57, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 157, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 158.

61. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 і SEQ ID NO: 109, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибраний з групи: SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO:

111 і SEQ ID NO: 112.

62. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52 або 61, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 GYTMN (SEQ ID NO: 107);

б) амінокислотну послідовність CDR H2 LITPYNGASSYNQKFRG (SEQ ID NO: 108); і

в) амінокислотну послідовність CDR H3 GGYDGRGFDY (SEQ ID NO: 109); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 SASSSVSYMH (SEQ ID NO: 110);

д) амінокислотну послідовність CDR L2 DTSKLAS (SEQ ID NO: 111); і

е) амінокислотну послідовність CDR L3 QQWSKHPLT (SEQ ID NO: 112).

63. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52, 61 або 62, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 114.

64. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52 або 61-63, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114.

65. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 32, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, яка ідентична принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 33.

66. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-52 або 65, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з HER1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 115, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 116.

67. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить

(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2;

(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

68. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить

(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4;

(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

69. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить

а) принаймні один важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

б) принаймні один легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34.

70. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить

(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і

(в) легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

71. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить

(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85;

(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і
(в) легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1.

72. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить
(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;
(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3;
(в) перший легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; і
(г) другий легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74.

73. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить
(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77;
(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82;
(в) перший легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; і
(г) другий легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81.

74. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить
(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76;
(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77;
(в) перший легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; і
(г) другий легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79.

75. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить
(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132;
(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 136;
(в) перший легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; і
(г) другий легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 133.

76. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-48, що містить
(а) перший важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 137;
(б) другий важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 139;
(в) перший легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; і
(г) другий легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 138.

77. Ідіотипспецифічний поліпептид, призначений для оборотного приховування анти-CD3 антигензв'язуючого сайта молекули.

78. Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 77, де ідіотипспецифічний поліпептид являє собою антиідіотиповий scFv.

79.Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 77 або 78, де ідіотипспецифічний поліпептид ковалентно приєднаний до молекули через лінкер.

80. Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 79, де лінкер являє собою пептидний лінкер.

81. Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 79 або 80, де лінкер являє собою лінкер, розщеплений протеазою.

82. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 79-81, де пептидний лінкер містить принаймні один сайт, який розпізнається протеазою.

83. Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 82, де протеаза вибрана з групи, що складається з металопротеїнази, серинової протеази, цистеїнової протеази, аспарагінової протеази і протеази катепсину.

84. Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 83, де металопротеїназа являє собою матричну металопротеїназу (MMP), переважно MMP9 або MMP2.

85.Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 83, де серинова протеаза являє собою матриптазу.

86. Ідіотипспецифічний поліпептид за варіантом здійснення винаходу 82, де лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36) або розпізнавану протеазою послідовність VHMPLGFLGPRQARVVNG (SEQ ID NO: 97).

87. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-86, де молекула являє собою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини.

88. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-87, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22).

89. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-88, який містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L)1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

90. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-87, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 DYSIH (SEQ ID NO: 20);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 WINTETGEPAYADDFKG (SEQ ID NO: 21);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 PYDYDVLDY (SEQ ID NO: 22); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASKSVSTSNYSYIH (SEQ ID NO: 23);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 YVSYLES (SEQ ID NO: 24); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHSREFPWT (SEQ ID NO: 25).

91. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-87, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27); і

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28).

92. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-87 і 91, який містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить принаймні одну з наступних послідовностей:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

93. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-87, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28); і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

94. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-93, в якому анти-CD3 антигензв'язуючий сайт містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

95. Виділений полінуклеотид, який кодує активовану протеазою що активує Т-клітини біспецифічну антигензв'язуючу молекулу за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76 або ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-94.

96. Поліпептид, який кодується полінуклеотидом за варіантом здійснення винаходу 95.

97. Вектор, насамперед експресійний вектор, який містить полінуклеотид за варіантом здійснення винаходу 95.

98. Клітина-хазяїн, що містить полінуклеотид за варіантом здійснення винаходу 95 або вектор за варіантом здійснення винаходу 97.

99. Спосіб одержання активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-

клітини, що включає стадії, на яких а) культивують клітину-хазяїна за варіантом здійснення винаходу 98 в умовах, придатних для експресії активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, і б) виділяють активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини.

100. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, одержана способом за варіантом здійснення винаходу 99.

101. Спосіб одержання ідіотипспецифічного поліпептиду, що включає стадії, на яких а) культивують клітину-хазяїна за варіантом здійснення винаходу 98 в умовах, придатних для експресії ідіотипспецифічного поліпептиду, і б) виділяють ідіотипспецифічний поліпептид.

102. Ідіотипспецифічний поліпептид, одержаний способом за варіантом здійснення винаходу 101.

103. Фармацевтична композиція, що містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76 і фармацевтично прийнятний носій.

104. Фармацевтична композиція, що містить ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-94 і фармацевтично прийнятний носій.

105. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76, ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-94 або композиція за варіантом здійснення винаходу 103, призначені для застосування як лікарський засіб.

106. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, призначена для застосування за варіантом здійснення винаходу 105, де лікарський засіб призначений для лікування або уповільнення розвитку раку, лікування або уповільнення розвитку захворювання, пов'язаного з імунною системою, або підвищення або стимуляції імунної відповіді або функції в індивідуума.

107. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76, ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-94 або композиція за варіантом здійснення винаходу 103, призначені для застосування для лікування захворювання в індивідуума, що потребує цього.

108. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, або ідіотипспецифічний поліпептид, призначена/призначений для застосування для лікування захворювання в індивідуума, що потребує цього, за варіантом здійснення винаходу 107, де захворювання являє собою рак.

109. Застосування активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76 або ідіотипспецифічного поліпептиду за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-94 для приготування лікарського засобу.

110. Застосування за варіантом здійснення винаходу 109, в якому захворювання являє собою рак.

111. Спосіб лікування захворювання в індивідуума, що включає введення зазначеному індивідууму в терапевтично ефективній кількості композиції, яка містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76, або композиции за варіантом здійснення винаходу 103.

112. Спосіб індукції лізису клітини-мішені, що включає приведення в контакт клітини-мішені з активованою протеазою біспецифічною молекулою, яка активує Т-клітини за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 1-76 або композицією за варіантом здійснення винаходу 103 в присутності Т-клітини.

113. Спосіб за варіантом здійснення винаходу 112, в якому клітина-мішень являє собою ракову клітину.

114. Спосіб за варіантом здійснення винаходу 112 або 113, в якому клітина-мішень експресує протеазу, що має здатність активувати активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини.

115. Антиідіотипове антитіло до CD3 або його антигензв'язуючий фрагмент, специфічне/специфічно по відношенню до ідіотипу анти-CD3 антигензв'язуючої молекули, де антиідіотипове антитіло до CD3 або його антигензв'язуючий фрагмент при зв'язуванні з анти-CD3 антигензв'язуючою молекулою специфічно блокує зв'язування анти-CD3 антигензв'язуючої молекули з CD3.

116. Антиідіотипове антитіло до CD3 або його антигензв'язуючий фрагмент за варіантом здійснення винаходу 115, де антиідіотипове антитіло до CD3 або його фрагмент оборотно асоційовані з анти-CD3 антигензв'язуючою молекулою через пептидний лінкер, що містить сайт, який розпізнається протеазою.

117. Антиідіотипове антитіло до CD3 або його антигензв'язуючий фрагмент за варіантом здійснення винаходу 115 або 116, де CD3 являє собою мишачий, мавпячий або людський CD3.

118. Спосіб знижчення токсичності in vivo що активує Т-клітини біспецифічної молекули, що включає приєднання ідіотипспецифічного поліпептиду за будь-яким із варіантів здійснення винаходу 77-94 до біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, за допомогою розщеплюваного протеазою лінкера з одержанням активованої протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, при цьому токсичність in vivo активованою протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, знижується порівняно з токсичністю біспецифічної молекули, яка активує Т-клітини.

119. Винахід як він представлений вище в даному описі.

Приклади

Нижче представлені приклади способів і композицій, запропонованих у винаході. Як має бути очевидно, можна здійснювати на практиці різноманітні інші варіанти здійснення винаходу в цілому з врахуванням представленого вище опису винаходу.

Приклад 1

Синтез одновалентних молекул анти-CD3 IgG з антиідіотиповим scFv

В даному описі представлені CD3-зв'язуючі агенти, які замасковані за допомогою зв'язаного на N-кінці антиідіотипового CD3 scFv. Ці конструкції включають який розпізнається протеазою сайт, що розпізнається специфічною для пухлини протеазою. В присутності пухлинних клітин, що експресують протеазу, лінкер, який з'єднує маскуючий фрагмент, може розщеплюватись і в результаті цього відновлюється зв'язування CD3 CD3-зв'язуючим агентом. Одержували декілька одновалентних молекул анти-CD3 IgG з різними антиідіотиповими scFv, і вони схематично представлені на фіг. 1А-Д під відповідними їм ідентифікаційними (ID) номерами. Одержували наступні молекули:

Ідентифікаційний №.7859: одновалентний CD3 IgГ (антиідіотиповий scFv 4.15.64 - сайт матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з CD3 Fab - інертний Fc), злитий на N-кінці з анти-CD3 scFv 4.15.64 і розщеплюваним протеазою лінкером.

Ідентифікаційний №.7860: одновалентний CD3 IgГ (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - сайт матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з CD3 Fab - інертний Fc), злитий на N-кінці з анти-CD3 scFv 4.32.63 і розщеплюваним протеазою лінкером.

Ідентифікаційний № 7857: одновалентний CD3 IgГ (антиідіотиповий scFv 4.15.64 - нерозщеплюваний лінкер - CD3 - злитий на N-кінці з CD3 Fab - інертний Fc), злитий на N-кінці з анти-CD3 scFv 4.15.64 і розщеплюваним протеазою лінкером.

Ідентифікаційний № 7858: одновалентний CD3 IgГ (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - нерозщеплюваний лінкер - CD3 - злитий на N-кінці з CD3 Fab - інертний Fc), злитий на N-кінці з анти-CD3 scFv 4.32.63 і розщеплюваним протеазою лінкером.

Ідентифікаційний № 7861: одновалентний CD3 IgГ (CD3 Fab - інертний Fc), злитий на N-кінці з анти-CD3 scFv 4.15.64/4.32.63 і (розщеплюваним) протеазою лінкером.

Послідовності антиідіотипових (ID) зв'язуючих агентів одержували за допомогою RACE-ПЛР (ПЛР зі швидкою ампліфікацією кінців кДНК) з РНК клітин гібридоми. Клітини гібридоми одержували шляхом імунізації мишей Fab-фрагментом CH2527 (VL_7-46(13)/VH_3-23(12)). Синтез послідовності одноланцюгового Fv (ScFv), включаючи необхідні для клонування сайти рестрикції, замовляли на фірмі Invitrogen. Порівнювали афінність шести різних антиідіотипових CH2527-зв'язуючих агентів (фіг.2, результати Biacore-аналізу (фірма AG M. Schräml) при 25 °C/37 °C (аналіт: MAK<CEA/CD3>rH)), і два з них клонували у вигляді N-кінцевих злиттів на важкому ланцюзі CD3 Fab-Fc.

ДНК-послідовності анти-ID одноланцюгових Fv субклонували в рамці зчитування з CD3 VH-ланцюгом, попередньо вбудованим у відповідний експресійний вектор для клітин ссавців, який застосовується як реципієнт. Експресія білка знаходилась під контролем MPSV-промотора, а на 3'-кінці CDS була присутня синтетична сигнальна поліА-послідовність. Крім того, кожний вектор містив послідовність OriP EBV.

Молекули одержували шляхом спільної трансфекції зростаючих в суспензії клітин HEK293-EBNA експресійними векторами для клітин ссавців з використанням поліетиленіміну (ПЕІ). Клітини трансфектували відповідними експресійними векторами у співвідношенні 1:1: 2 ("Fc "западина" (CH2-CH3)": "Загальний легкий ланцюг (CLC)": "вектор важкого ланцюга з "виступом" (scFv-VH-CH1-CH2-CH3)").

Для трансфекції клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій культуральному середовищі Excell, що містить 6мМ L-глутамін і 250 мг/л культурального середовища G418. Для виробництва висівали в центрифужні флакони місткістю 600 мл (максимальний робочий об'єм 400 мл) 800 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції без G418. Для трансфекції 800

млн клітин центрифугували протягом 5 хв при 210×g, і супернатант заміняли 40 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO, яка містить 6мМ L-глутамін. Експресійні вектори змішували в 40 мл середовища CD CHO, яка містить 6мМ L-глутамін, для одержання кінцевої кількості ДНК 400 мкг. После додавання 1080 мкл розчину ПЕІ (2,7 мкг/мл) суміш інтенсивно перемішували протягом 15 з і потім інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/ПЕІ, переносили в 600-мілілітровий центрифужний флакон та інкубували протягом 3 год. при 37 °С в інкубаторі в атмосфері, яка містить 5 % CO_2. Після інкубації додавали 360 мл середовища Excell+6мМ L-глутамін + 5 г/л Pepsoy+1,0мМ VPA+3 г/л глюкози, і клітини культивували протягом 24 год. перед здійсненням підживлення 7 % Feed 7. Після культивування протягом 6-7 днів супернатант збирали для очистки шляхом центрифугування протягом 20-30 хв при 210×г (центрифуга Sigma 8K). Розчин стерилізували фільтрацією (фільтр з розміром пор 0,22 мкм) і додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.). Розчин зберігали при 4 °С до очистки. Секретований білок очищували з супернатантів клітинних культур за допомогою афінної хроматографії, застосовуючи афінну хроматографію на білку А, з подальшою(ими) однією або двома стадією(ями) гель-фільтрації.

Для проведення афінної хроматографії супернатант вносили на колонку HiTrap білок А FF (CV (об'єм колонки) = 5 мл, фірма GE Healthcare), врівноважену 25 мл буфера, що містить 20мМ фосфат натрію, 20мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію, 0,01 % Твін-20, pH 7,5. Незв'язаний білок видаляли промиванням, використовуючи об'єм буфера, який дорівнює принаймні 10 об'ємам колонки, що містить 20мМ фосфат натрію, 20мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію, 0,01 % Твін-20, pH 7,5, необхідний білок елюювали, застосовуючи об'єм буфера, що дорівнює 20 об'ємам колонки (градієнт від 0 % до 100 %), що містить 20мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію, 0,01 % Твін-20, pH 2,5. Розчин білка нейтралізували шляхом додаванням 1/10 2М Трис, pH 10,5. Необхідний білок кінцентрували за допомогою ультра-концентратора Amicon®Ultra-15 Ultracel 30K (фірма Merck Millipore Ltd.) до об'єма, що складає максимум 4 мл, перед завантаженням на колонку HiLoad Супердекс 200 (фірма GE Healthcare), врівноважену буфером, який містить 20мМ гістидин, 140мМ хлорид натрію, pH 6,0, 0,01 % Твін-20.

При здійсненні аналізу білка після гель-фільтрації чистоту і молекулярну масу молекул у вигляді одиничних фракцій визначали за допомогою ДСН-ПААГ за відсутності відновлювача і здійснювали фарбування кумаси (InstantBlue™, фірма Expedeon). Застосовували систему гелю NuPAGE® Pre-Cast (4-12 % Біс-Трис, фірма Invitrogen або 3-8 % Трис-ацетату, фірма Invitrogen) відповідно до інструкції виробника.

Концентрацію білків в очищених білкових зразках визначали, вимірюючи оптичну густину (ОГ) при 280 нм, здійснюючи ділення на коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності.

Чистоту і молекулярну масу молекул після кінцевої стадії очистки аналізували за допомогою КЕ-ДСН в присутності відновлювача і без нього. Застосовували систему Caliper LabChip GXII (фірма Caliper Lifescience) відповідно до інструкції виробника. Вміст агрегатів молекул визначали з використанням колонки для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), застосовуючи рухомий буфер, який містить 25мМ K_2HPO_4, 125мМ NaCl, 200мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN_3, pH 6,7 при 25 °С. Кінцева якість всіх молекул виявилась високою із вмістом мономерів ≥ 92 %.

Таблиця 2

Узагальнені дані про результати одержання і очистки активованих протеазою одновалентних молекул CD3 IgG

Молекула	Титр [мг/л]	Вихід [мг/л]	Аналітична SEC (HMW/мономер/LMW) [%]
1	12	3,38	2,21/95,5/2,29
2	9	1,75	4,86/95,14/0
3	15	4,8	6,93/93,07/0
4	4.5	0,26	4,88/95,12/0
5	105,3	26,3	0/100/0

Приклад 2

Розщеплення і стабільність активованих протеазою IgG

Активовані протеазою молекули IgG аналізували за допомогою капілярного електрофорезу. Порівняння необробленого зразка і обробленого зразка продемонструвало, що анти-ID scFv повністю відщеплювали після обробки rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems), про що

свідчило зрушення за розміром при аналізі методом ДСН-ПААГ (фіг. 3). Аналіз зразків, які інкубували протягом 48 год. при 37 °С, підтвердив стабільність молекул в буфері для препаративної форми (фіг. 3А-Г).

Приклад 3

Маскуючий ефект антиідіотипового scFv по відношенню до CD3 IgG

Ефективність маскування CD3-зв'язуючого агента шляхом N-кінцевого злиття антиідіотипового CD3 scFv продемонстрована за допомогою репортерного аналізу з використанням Jurkat-NFAT. Репортерні клітини Jurkat-NFAT (лінія репортерних клітин гострого людського лейкозу з регульованою промотором NFAT експресією люциферази, GloResponse Jurkat NFAT-RE-luc2P, фірма Promega, № CS176501) експресують активну люциферазу світляка, якщо промотор NFAT активований в результаті зв'язування з CD3ε. Інтенсивність сигналу люмінесценції після додавання субстрату люциферази пропорціональна інтенсивності активації і передачі сигналу CD3. Повністю незамасковані одновалентні молекули CD3 служили як позитивний контроль. Обробку здійснювали за допомогою rh-матриптази/ST14 (фірма R&D Systems) протягом 48 год. при 37 °С. В паралельному експерименті для сенсибілізізації 96-лункового (плоского) планшета з білими стінками і прозорим дном (фірма Greiner Bio-One) використовували 8 мкг/мл антитіла до людського Fc-домену (фірма BioLegends) з розрахунку 0,025 мкл/лунку в ЗФР протягом 48 год. при 4 °С. ЗФР видаляли за допомогою піпетки перед додаванням одновалентних IgG у вказаному діапазоні концентрацій 200нМ - 2,56пМ. Планшети інкубували протягом приблизно 30 хв при 4 °С. Потім репортерні клітини Jurkat-NFAT збирали і оцінювали життєздатність за допомогою пристрою ViCell. Клітини ресуспендували в середовищі Jurkat (RPMI1640, 2 г/л глюкози, 2 г/л $NaHCO_3$, 10 % FCS, 25мМ HEPES, 2мМ L-глутамін, 1×NEAA, 1 ×піруват натрію) без гігроміцину і додавали 100 мкл на лунку (25000 клітин/лунку) к перехресно зшитим одновалентним CD3 IgG. Клітини інкубували протягом 3 год. при 37 °С у вологій камері. Планшети вилучали з інкубатора приблизно за 10 хв до зчитування люмінесценції для адаптації др кімнатній температурі. Додавали 100 мкл/лунку розчину ONE-Glo (1:1 об./об. ONE-Glo і середовища для аналізу на лунку) в лунки та інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі в темряві. Визначення люмінесценції здійснювали за допомогою ридера WALLAC Victor3 ELISA (PerkinElmer2030), тривалість детекції 1 лунки складала 1 с. Для молекул 7857 (маскування за допомогою конструкції 4.15.64 з нерозщеплюваним лінкером) і 7859 (необроблена) обнаружено суттєво снижченное зв'язування з CD3ε порівняно з незамаскованою (7861) і попередньо обробленої молекулою (7859, оброблена) (фіг. 4А). Молекулу 7760 включали як контроль для демонстраціх того, що N-кінцеве зв'язування не блокувало зв'язування самого CD3. Для молекул 7858 (маскування за допомогою конструкції 4.32.63 з нерозщеплюваним лінкером) і 7860 (необроблена) виявлене суттєво знижене зв'язування з CD3ε порівняно з незамаскованої (7861) і попередньо обробленої молекулою (7860, оброблена) (фіг. 4Б). Відповідно до результатів оцінки афінності антиідіотипових CD3-зв'язуючих агентів маскування за допомогою конструкції 4.32.63 була суттєво більш ефективною, ніж за допомогою 4.15.64. На основі величин EC_{50} (фіг. 4В) можна вважати, що замаскований 4.32.63 CD3-зв'язуючий агент зв'язувався в 54 рази слабкіше, ніж незамаскований CD3-зв'язуючий агент 7861. Масування за допомогою 4.15.64 знижувало зв'язування лише в 16 разів менше порівняно з 7861. Залежно від пухлини-мішені і цільового зв'язуючого агента можна визначати найбільш ефективний маскуючий агент.

Приклад 4

Одержання анти-FolR1/анти-CD3 активуючих Т-клітини біспецифічних (TCB) молекул з анти-CD3 scFv

Одержували декілька активуючих Т-клітини біспецифічних молекул (TCB) з різними антиідіотиповими scFv, і вони схематично представлені на фіг. 5А-З под відповідними ID-номерами. Одержували наступні молекули:

ID7344: FolR1 16D5 2+1 IgG, класичний формат (антиідіотиповий scFv 4.15.64 - сайт матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з FolR1 VH - інертний Fc), зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.15.64 і (розщеплюваним) протеазою лінкером (фіг. 5А, SEQ ID NO: 1, 2 і 3).

ID7496: FolR1 16D5 2+1 IgG, класичний формат (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - сайт матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з FolR1 VH - інертний Fc), зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і (розщеплюваним) протеазою лінкером (фіг. 5В, SEQ ID NO: 1, 3 і 4).

ID7676: FolR1 16D5 2+1 IgG, класичний формат (антиідіотиповий scFv 4.15.64 - сайт матриптази MK062 - нерозщеплюваний GS-лінкер- CD3 злитий на N-кінці з FolR1 VH - інертний Fc), зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.15.64 і (розщеплюваним) протеазою лінкером (фіг. 5Б, SEQ ID NO: 1, 3 і 6).

ID7611: FolR1 16D5 2+1 IgG, класичний формат (антиідіотиповий scFv 4.32.63 -

нерозщеплюваний GS-лінкер - CD3 злитий на N-кінці з FolR1 VH - інертний Fc), зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і (розщеплюваним) протеазою лінкером (фіг. 5Г, SEQ ID NO: 1, 3 і 5).

Послідовності антиідіотипових (ID) зв'язуючих агентів одержували за допомогою RACE-ПЛР (ПЛР із швидкою ампліфікацією кінців кДНК) з РНК клітин гібридоми. Клітини гібридоми одержували шляхом імунізації мишей Fab-фрагментом CH2527 (VL_7-46(13)/VH_3-23(12)). Синтез послідовності одноланцюгового Fv (ScFv), включаючи необхідні для клонування сайти рестрикції, замовляли на фірмі Invitrogen. Порівнювали афінності шести різних антиідіотипових CH2527-зв'язуючих агентів (фіг.2, результати Biacore-аналізу (фірма AG M. Schräml) при 25 °C/37 °C (аналіт: MAK<CEA/CD3>rH)), і чотири з них клонували у вигляді N-кінцівих зливань на HC CD3-FolR1 16D5 TCB.

ДНК-послідовності анти-ID одноланцюгових Fv субклонували в рамці зчитування з CD3 VH-ланцюга, попередньо вбудованої у відповідний застосовний як реципієнт експресійний вектор для клітин ссавців. Експресія білка знаходилась під контролем MPSV-промотора, а на 3'-кінці CDS була присутня синтетична сигнальна поліА-послідовність. Крім того, кожний вектор містив послідовність OriP EBV.

Молекули одержували шляхом спільної трансфекції зростаючих в суспензії клітин HEK293-EBNA експресійними векторами для клітин ссавців з використанням поліетиленіміну (ПЕІ). Клітини трансфектували відповідними експресійними векторами у співвідношенні 1: 3: 2 ("вектор важкого ланцюга з "западиною" (VH-CH1-CH2-CH3)": "Загальний легкий ланцюг (CLC)": "вектор важкого ланцюга з "виступом" (scFv-VH-CH1-VH-CH1-CH2-CH3)").

Для трансфекції клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій культуральному середовищі Excell, яке містить 6мМ L-глутамін і 250 мг/л культурального середовища G418. Для виробництва висівали в центрифужні флакони місткістю 600 мл (максимальний робочий об'єм 400 мл) 800 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції без G418. Для трансфекції 800 млн клітин центрифугували протягом 5 хв при 210×g, і супернатант заміняли 40 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO, яке містить 6мМ L-глутамін. Експресійні вектори змішували в 40 мл середовища CD CHO, яке містить 6мМ L-глутамін, для одержання кінцевої кількості ДНК 400 мкг. Після додавання 1080 мкл розчину ПЕІ (2,7 мкг/мл) суміш інтенсивно перемішували протягом 15 з і потім інкубували протягом 10 хв при кімнатній температури. Потім клітини змішували з розчином ДНК/ПЕІ, переносили в 600-мілілітровий центрифужний флакон та інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері, яка містить 5 % CO_2. Після інкубації додавали 320 мл середовища Excell+6мМ L-глутамін + 5 г/л Pepsoy+1,0мМ VPA+3 г/л глюкози, і клітини культивували протягом 24 год. перед здійсненням підживлення 7 % Feed 7. После культивування протягом 6-7 днів супернатант збирали для очистки шляхом центрифугування протягом 20-30 хв при 210×г (центрифуга Sigma 8K). Розчин стерилізували фільтрацією (фільтр з розміром пор 0,22 мкм) і додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.). Розчин зберігали при 4 °C до очистки. Секретований білок очищували із супернатантів клітинних культур за допомогою афінної хроматографії, застосовуючи афінну хроматографію на білку А, з подальшою(ими) однією або двома стадією(ями) гель-фільтрації.

Для проведеням афінної хроматографії супернатант вносили на колонку HiTrap білок А FF (CV=5 мл, фірма GE Healthcare), врівноважену 25 мл буфера, що містить 20мМ фосфат натрію, 20мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію, 0,01 % Твін-20, pH 7,5. Незв'язаний білок видаляли промиванням, використовуючи об'єм буфера, що дорівнює принаймні 10 об'ємам колонки, що містить 20мМ фосфат натрію, 20мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію, 0,01 % Твін-20, pH 7,5, необхідний білок елюювали, застосовуючи об'єм буфера, що дорівнює 20 об'ємам колонки (градієнт від 0 % до 100 %), що містить 20мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію, 0,01 % Твін-20, pH 2,5. Розчин білка нейтралізували шляхом додавання 1/10 2М Трис, pH 10,5. Необхідний білок коцентрували за допомогою ультра-концентратора Amicon®Ultra-15 Ultracel 30K (фірма Merck Millipore Ltd.) до об'єма, що складає максимум 4 мл, перед завантаженням на колонку HiLoad Супердекс 200 (фірма GE Healthcare), врівноважену буфером, який містить 20мМ гістидин, 140мМ хлорид натрію, pH 6,0, 0,01 % Твин-20.

При здійсненні аналізу білка після гель-фільтрації визначали чистоту і молекулярну масу молекул у вигляді одиничних фракцій за допомогою ДСН-ПААГ за відсутності відновлювача і здійснювали фарбування кумаси (InstantBlue™, фірма Expedeon). Застосовували систему гелю NuPAGE® Pre-Cast (4-12 % Бис-Трис, фірма Invitrogen або 3-8 % Трис-ацетату, фірма Invitrogen) відповідно до інструкції виробника.

Концентрацію білків в очищених білкових зразках визначали, вимірюючи оптичну густину (ОР) при 280 нм і здійснюючи ділення на коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності.

Чистоту і молекулярну масу молекул після кінцевої стадії очистки аналізували за допомогою

КЕ-ДСН в присутності відновлювача і без нього. Застосовували систему Caliper LabChip GXII (фірма Caliper Lifescience) відповідно до інструкції виробника.

Вміст агрегатів молекул визначали з використанням колонки для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), застосовуючи рухомий буфер, який містить 25мМ K_2HPO_4, 125мМ NaCl, 200мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN_3, pH 6,7 при 25 °C. Кінцева якість всіх молекул виявилась високою із вмістом мономерів ≥ 92 %.

Таблиця 2

Узагальнені дані про результати одержання і очистки активованих протеазою одновалентних молекул CD3 IgG

Молекула	Титр [мг/л]	Вихід [мг/л]	Аналітична SEC (HMW/мономер/LMW) [%]
1	33	3,7	0,98/92,7/6,32
2	11	0,55	3,76/96,24/0
3	12,9	0,89	2,9/93,82/2,19
4	6,7	0,35	4,59/95,41/0

Приклад 5

Короткочасна експресія активованих протеазою TCB

Порівнювали методом гель-фільтрації різноманітні співвідношення плазмід, застосованих для трансфекції, оскільки очикувалось, що ланцюг, який містить "виступ", повинен експресуватись з більш низькими рівнями порівняно з ланцюгом, який містить "западину", і легким ланцюгом. Як продемонстровано На фіг. 6 і 7, застосування плазмід у співвідношенні 1 ("западина"): 2 ("виступ): 3 (CLC) (фіг. 7) замість 1 ("западина"): 1 ("виступ"): 3 (CLC) (фіг. 6) підвищувало вихід правильної молекули (лівий пік) і знижувало кількість гомодимерів типу "западина"-"западина" (правий пік).

Приклад 6

Розщеплення і стабільність активованої протеазою TCB

Активовані протеазою TCB аналізували за допомогою капілярного електрофорезу. Порівняння необробленого зразка і обробленого зразка продемонстувало, що анти-ID scFv повністю відщеплювали після обробки rh-матриптазою/ST14 (фірма R&D Systems). Аналіз зразків, які інкубували протягом 48 год. при 37 °C, підтвердив стабільність молекул в буфері для препаративної форми (фіг.12А-Г).

Приклад 7

цитоліз клітин при використанні клітинних ліній, які експресують різноманітні рівні FolR1

Опосередкований Т-клітинами цитоліз клітин, індукований активованими протеазою TCB-молекулами, оцінювали з використанням ліній клітин-мішеней, що експресують різноманітні рівні FolR1 (фіг. 13). Людські PBMC застосовували як ефекторних клітин, і цитоліз клітин визначали після інкубації протягом 48 год. з активованими протеазою TCB-молекулами. Мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) людини виділяли з свіжеодержаних зразків крові або з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. При використанні свіжої, для одержання застосовували 50-мілілітрові пробірки Leucosep (фірма GreinerBioOne). При використанні збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки) для одержання застосовували градієнт густини Histopaque-1077. Кров/лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, №H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, яка містить PBMC, відкидали і PBMC переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax, при 37 °C, 5 % CO_2 в інкубаторі для клітин для подальшого застосування. В цілому, метод полягав у наступному: прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували з розрахунку 0,4 ×10^6 клітин/мл в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1×GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в круглодонні 96-лункові планшети. Для аналізу цитолізу молекули додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях. FolR1 16D5 TCB включали як позитивний контроль, а "ненацілену" TCB-молекулу

(яка зв'язується з CD3, але не з антигеном клітини-мішені) включали як негативний контроль. PBMC додавали до клітин-мішеней в кінцевому співвідношенні E:T 10:1. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 1 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB.

Результати (фіг. 14A, 15A, 16, 17, 18A, 19A і 20A) продемонстрували, що активовані протеазою TCB з антиідіотиповим CD3 scFv-фрагментом, зв'язаним на N-кінці за допомогою нерозщеплюваного лінкера (№ 7676 і № 7611, фіг. 5Б і Г відповідно), мали здатність суттєво знижувати клітинний цитоліз клітин ліній Skov3 і HT29. конструкція № 7611 (фіг. 5Г) забезпечувала знижений цитоліз клітин HeLa, проте антиідіотиповий CD3 scFv 4.15.64 в конструкції № 7676 (фіг. 5Б) виявився менш ефективним по відношенню до зниження цитолізу клітин. Це узгоджується з афінностями антиідіотипового N-кінцевого фрагмента CD3 scFv. ScFv-фрагмент, що має більш висок афінність, забезпечував більш ефективне маскування.

Порівнювана ефективність оброблених і необроблених TCB дозволяє припустити наявність експресії матриптази на клітинах HeLa і Skov3. Ймовірно, рівень експресії матриптази нижче в клітинах HT29. Обробка Mkn-45, негативною за FolR1 клітинної лінії, продемонструвала, що при використанні всіх застосовних в даному описі молекул цитоліз був дуже слабким (фіг. 15A).

Приклад 8

Т-клітинна активація після спільної інкубації ліній пухлинних клітин з людськими PBMC

Т-клітинну активацію, опосередковану активованими протеазою TCB-молекулами, оцінювали з використанням клітин HeLa, Skov3 і HT29. Людські PBMC застосовували як ефекторних клітин і активацію Т-клітин визначали після інкубації протягом 48 год. з клітинами-мішенями і антитілами. Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в круглодонні 96-лункові планшети. Молекули додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях. FolR1 16D5 TCB включали як позитивний контроль, а "ненацілену" TCB-молекулу (яка зв'язується з CD3, але не з антигеном клітини-мішені) включали як негативний контроль. PBMC додавали до клітин-мішеней в кінцевому співвідношенні E:T 10:1. Т-клітинну активацію оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного визначення CD25 і CD69 на CD4-позитивних і CD8-позитивних Т-клітинах. Результати оцінки Т-клітинної активації узгоджуються з результатами, одержаними в попередньому прикладі, в якому оцінювали цитоліз клітин-мішеней (Приклад 7).

Приклад 9

Т-клітинна активація, опосередкована активованими протеазою TCB і лініями клітин-мішеней, які експресують низькі рівні антигена

Т-клітинну активацію, опосередковану активованими протеазою TCB-молекулами, оцінювали з використанням клітин HT29, які експресують лише низькі рівні FolR1 (фіг. 13). Людські PBMC, виділені з лейкоцитарної плівки, застосовували як ефекторних клітин. При використанні збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки) для одержання застосовували градієнт густини Histopaque-1077. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, №H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, яка містить PBMC, відкидали і PBMC переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax, при 37 °C, 5 % CO_2 в інкубаторі для клітин для подальшого застосування. В цілому, метод полягав у наступному: прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували з розрахунку 0,4 $\times 10^6$ клітин/мл в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1×GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в круглодонні 96-лункові планшети. Молекули додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях. FolR1 16D5 TCB включали як позитивний контроль, а "ненацілену" TCB-молекулу (яка зв'язується з CD3, але не з антигеном клітини-мішені) включали як негативний контроль. PBMC додавали до клітин-мішеней в кінцевому співвідношенні E:T 10:1. Т-клітинну активацію оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного визначення CD25 і CD69 на CD4-

позитивних і CD8-позитивних Т-клітинах. Ефективність обробленої активованою протеазою ТСВ виявилась зіставною з ефективність 16D5 ТСВ (6298). Ефективність 16D5 ТСВ (інвертований формат)) виявилась більше високій порівняно з класичним форматом. "Замасковані" ТСВ з нерозщеплюваним лінкером або без попередньої обробки матриптазою не індукували Т-клітинну активацію при використанні вказаній клітинної лінії. Для клітинних ліній з низьким або помірним рівнями експресії FolR1 обидва антиідіотипові scFv забезпечували достатнє маскування CD3 Fab (фіг. 22А і Б).

Приклад 10

Т-клітинна активація, опосередкована активованими протеазою ТСВ, при використанні первинної клітинної лінії HRCEpiC

Т-клітинну активацію, опосередковану активованими протеазою ТСВ- молекулами, оцінювали з використанням первинних епітеліальних клітин кіркової речовини нирок людини (фірма ScienceCell), які експресують лише дуже незначні кількості FolR1 (фіг. 13). Людські РВМС, виділені з лейкоцитарної плівки, застосовували як ефекторних клітин. При використанні збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки) для одержання застосовували градієнт густини Histopaque-1077. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, №H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, яка містить РВМС, відкидали і РВМС переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис РВМС ресуспендували в 2 мл АСК-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °С протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням РВМС в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax, при 37 °С, 5 % CO_2 в інкубаторі для клітин для подальшого застосування. В цілому, метод полягав у наступному: прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували з розрахунку 0,4 ×10^6 клітин/мл в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1×GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в круглодонні 96-лункові планшети. Молекули додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях. FolR1 16D5 ТСВ включали як позитивний контроль, а "ненацілену" ТСВ-молекулу (яка зв'язується з CD3, але не з антигеном клітини-мішені) включали як негативний контроль. РВМС додавали до клітин-мішеней в кінцевому співвідношенні E:T 10:1. Т-клітинну активацію оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °С, 5 % CO_2 шляхом кількісного визначення CD25 і CD69 на CD4-позитивних і CD8-позитивних Т-клітинах. "Замаскована" 16D5 ТСВ не індукувала Т-клітинну активацію при інкубації з первинними епітеліальними клітинами кіркової речовини нирок людини, незважаючи на низький рівень експресії FolR1, при найбільш високій концентрації 10000пМ ТСВ, що демонструє ефективність антиідіотипового маскуючого фрагмента. Невелику активацію Т-клітин вдалось виявити для 16D5 ТСВ (інвертований і класичний формат) (фіг. 23).

Приклад 11

анти-ID CD3 Fab, маскуючий CD3-зв'язуючий агент молекули 16D5 ТСВ. цитоліз клітин Ovcar3

Опосередкований Т-клітинами цитоліз клітин-мішеней, викликаний активованими протеазою ТСВ-молекулами, оцінювали з використанням клітин OVCAR3 (фіг. 24). Людські РВМС застосовували як ефекторних клітин, і цитоліз клітин визначали після інкубації протягом 48 год. з молекулами. Мононуклеарні клітини периферійної крові (РВМС) людини виділяли з свіжеодержаних зразків крові здорового донора. Для одержання застосовували 50-мілілітрові пробірки Leucosep (фірма GreinerBioOne). Кров розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, №H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, яка містить РВМС, відкидали і РВМС переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис РВМС ресуспендували в 2 мл АСК-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °С протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням РВМС в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax, при 37 °С, 5 % CO_2 в інкубаторі для клітин для подальшого застосування. В цілому, метод полягав у наступному: прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували з розрахунку 0,4 ×10^6 клітин/мл в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1×GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною

20000 клітин/лунку в круглодонні 96-лункові планшети. Для аналізу цитолізу молекули додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях. FolR1 16D5 TCB включали як позитивний контроль, а "ненацілену" TCB-молекулу (яка зв'язується з CD3, але не з антигеном клітини-мішені) включали як негативний контроль. PBMC додавали до клітин-мішеней в кінцевому співвідношенні E:T 10:1. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 1 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB. Результати (фіг. 24) продемонстрували, що в активованій протеазою TCB з антиідіотиповим CD3 4.15.64, схрещений Fab, зв'язаний на N-кінці за допомогою нерозщеплюваного лінкера, не забезпечується істотна маскування CD3-зв'язуючого агента. Крім того, встановлено, що клітини Ovcar3, ймовірно, експресують матриптазу, оскільки необроблена молекула також індукувала цитоліз вказаних клітин.

Приклад 12

Цитоліз клітин Skov3 і HeLa з використанням людськими PBMC з трьох різних донорів

Цитоліз Т-клітинами, опосередкований активованими протеазою TCB- молекулами, оцінювали з використанням двох різних клітинних ліній, які експресували різноманітні рівні FolR1 (фіг. 25-27). Людські PBMC застосовували як ефекторних клітин, і цитоліз клітин визначали після інкубації протягом 48 год. з молекулами. Мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) людини виділяли з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. При використанні збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки) для одержання застосовували градієнт густини Histopaque-1077. Кров/Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, № H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, яка містить PBMC, відкидали і PBMC переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax і 10 % ДМСО. PBMC заморожували протягом ночі при -80 °C в камерах для охолодження клітин (Cool Cell box) до їх перенесення в рідкий азот. За 24 год. до початку аналізу PBMC піддавали відтаванню і витримували в середовищі RPMI1640, що містить 10 % FCS і 1× GlutaMax, при 37 °C, 5 % CO_2 в інкубаторі для клітин. За 1 день до початку аналізу прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували з розрахунку $0,4×10^6$ клітин/мл у відповідному середовищі. Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети. За 1 день до початку аналізу підраховували кількість PBMC і перевіряли їх життєздатність. PBMC центрифугували при 350×g протягом 5 хв і ресуспендували в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax). Середовище клітин-мішеней видаляли і додавали PBMC до клітин-мішеней перед додаванням розведених антитіл у вказаних концентраціях в трьох повторностях. FolR1 16D5 TCB включали як позитивний контроль, а "ненацілену" TCB-молекулу (яка зв'язується з CD3, але не з антигеном клітини-мішені) включали як негативний контроль. PBMC додавали до клітин-мішеней в кінцевому співвідношенні E:T 10:1. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 2 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB.

Результати (фіг. 25-27) продемонстрували, що FolR1 TCB з scFv 4.32.63, зв'язаним на N-кінці за допомогою нерозщеплюваного лінкера (фіг. 5Г), індукувала знижений цитоліз клітин HeLa в концентрації 100пМ і клітин Skov3 в концентрації 10нМ. FolR1 TCB з scFv 4.15.64, зв'язаним на N-кінці за допомогою нерозщеплюваного лінкера (фіг. 5Б), була менш ефективною по відношенню до зниження цитолізу клітин Skov3 в концентрації 10нМ. Встановлено, що більше сильне маскування, яке забезпечується антиідіотиповим scFv 4.32.63, що має більш високу афінність, є більш ефективною по відношенню до CD3-зв'язуючого агента, ніж у випадку

більш слабкого антиідіотипового scFv 4.15.64. Порівнювана ефективність оброблених і необроблених ТСВ дозволяє припустити наявність експресії протеази, наприклад, матриптази, на клітинах HeLa і Skov3.

Приклад 13

Одержання HER1-зв'язуючого антитіла GA201, замаскованого за допомогою антиідіотипового GA201 scFv

В цьому прикладі описано одержання наступних молекул:

1: антитіло GA201 IgG1-підкласу з N-кінцевим злиттям антиідіотипового GA201 scFv і сайтом матричної металопротеїнази в гліцин-сериновому лінкері (SEQ ID NO: 32 і 34); і

2: HER1-антитіло IgG1-підкласу GA201, що зв'язується (SEQ ID NO: 32 і 33).

Їх схематичне зображення представлені на фіг. 28 і 29. Послідовність антиідіотипового (ID) зв'язуючого GA201 агента одержували за допомогою ЗТ-ПЛР (зворотна транскрипція) з РНК клітин гібридоми, використовуючи вироджені праймери, які зв'язуються з кінцями варіабельних ділянок легкого і важкого ланцюга відповідно. Клітини гібридоми одержували імунізацією мишей. Синтез послідовності ДНК одноланцюгового Fv (ScFv) з фланкуючими унікальними сайтами рестриктаз замовляли на фірмі Geneart і клонували у вигляді N-кінцевого злиття на легкому ланцюзі GA201.

Експресійний вектор фірми Roche застосовували для створення всіх важких і легких ланцюгів злитого білка, що містить scFv, який кодувався експресійними плазмідами. Вектор складався з наступних елементів:

- ген, який обумовлює стійкість до гігроміцину як маркера для селекції,
- сайт ініціації реплікації, oriP, з вірусу Епштейна-Барра (EBV),
- сайт ініціації реплікації з вектора pUC18, який забезпечує реплікацію цієї плазміди в E. coli,
- ген бета-лактамази, що надає стійкості до ампіциліну E. coli,
- негайно-ранній енхансер і промотор з цитомегаловірусу людини (HCMV),
- сигнальна послідовність поліаденілювання ("полі А") з людського імуноглобуліну 1 і
- унікальні сайти рестрикції BamHI і XbaI.

Молекули одержували шляхом спільної трансфекції клітин нирки людського ембріона 293-F, зростаючих в суспензії, експресійними векторами для клітин ссавців, використовуючи систему для експресії FreeStyle™ 293 відповідно до інструкції виробника (фірма Invitrogen, США). В цілому, метод полягав у наступному: суспензійні клітини FreeStyle™ 293-F культивували в середовищі для експресії FreeStyle™ 293 при 37 °C/8 % CO_2 і клітини висівали в свіже середовище з густиною 1-2×10^6 життєздатних клітин/мл в день трансфекції. Одержували комплекси ДНК-293fectin™ в середовищі Opti-MEM I (фірма Invitrogen, США), використовуючи 325 мкл 293fectin™ (фірма Invitrogen, Німеччина) і 250 мкг плазмідної ДНК важкого ("GA201 важкий ланцюг") і легкого ланцюга ("анти-GA201 VH-VL scFv розщеплюваний MMP лінкер G4S GA201 легкий ланцюг" або "GA201 легкий ланцюг") в молярному співвідношенні 1:1 в кінцевому об'ємі суміші для трансфекції 250 мл. Супернатанти клітинних культур, які містять антитіло, збирали через 7 днів після трансфекції шляхом центрифугування при 14000×g протягом 30 хв і фільтрували через стерильний фільтр (0,22 мкм). Супернатанти зберігали при -20 °C до очистки.

Секретований білок очищували зі супернатантів клітинних культур шляхом афінної хроматографії, використовуючи афінну хроматографію на білку А, з подальшою гель-фільтрацією. В цілому, метод полягав у наступному: стерилізовані фільтрацією супернатанти клітинних культур вносили на колонку HiTrap білок А HP (5 мл), врівноважену ЗФР-буфером (10мМ Na_2HPO_4, 1мМ KH_2PO_4, 137мМ NaCl і 2,7мМ KCl, pH 7,4). Незв'язані білки відмивали врівноважуючим буфером. Антитіло і варіанти антитіла елюювали 0,1М цитратним буфером, pH 2,8, і фракції, що містять білок, нейтралізували 0,1 мл 1М Трис, pH 8,5. Потім елюйовані білкові фракції об'єднували, концентрували за допомогою фільтруючої центрифуги Amicon Ultra (MWCO: 30 K, фірма Millipore) до об'єму 3 мл і вносили на колонку для гель-фільтрації Супердекс200 HiLoad 120 мл 16/60 (фірма GE Healthcare, Швеція), врівноважену буфером, який містить 20мМ гістидин, 140мМ NaCl, pH 6,0. Фракції, що містять очищений GA201-анти-GA201-scFv або GA201, із вмістом високомолекулярних агрегатів менше 5 %, об'єднували і зберігали у вигляді аліквот з концентрацією 1,0 мг/мл при -80 °C.

При здійсненні аналізу білка після гель-фільтрації чистоту і молекулярну масу молекул у вигляді одиничних фракцій визначали за допомогою ДСН-ПААГ за відсутності відновлювача і здійснювали фарбування кумаси (InstantBlue™, фірма Expedeon). Застосовували систему гелю NuPAGE® Pre-Cast (4-12 % Біс-Трис, фірма Invitrogen або 3-8 % Трис-ацетату, фірма Invitrogen) відповідно до інструкції виробника.

Концентрацію білків в очищених білкових зразках визначали, вимірюючи оптичну густину

(ОГ) при 280 нм і здійснюючи ділення на коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту і молекулярну масу молекул після кінцевої стадії очистки аналізували за допомогою КЕ-ДСН в присутності відновлювача і без нього. Застосовували систему Caliper LabChip GXII (фірма Caliper Lifescience) відповідно до інструкції виробника.

Вміст агрегатів молекул визначали за допомогою високоефективної SEC, використовуючи колонку для аналітичної гель-фільтрації Супердекс 200 (фірма GE Healthcare, Швеція) в рухомому буфері, що містить 200мМ KH_2PO_4, 250мМ KCl, pH 7,0, при 25 °С. 25 мкг білка ін'єктували в колонку зі швидкістю потоку 0,5 мл/хв і здійснювали ізократичне елюювання протягом приблизно 50 хв.

Після кінцевої очистки в усіх молекулах вміст мономера складало ≥ 95 % за даними високоефективної SEC. Молекулярна маса замаскованого антиідіотиповим scFv GA201, визначена за допомогою КЕ-ДНС-аналізу, складала 216,3 кДа в невідновлюючих умовах (фіг. 30А) і 58,3 кДа у відновлюючих умовах по відношенню до важкого ланцюга GA201 і 60,3 кДа по відношенню до легкого ланцюга GA201, зцепленого з scFv (фіг. 30Б) відповідно. Молекулярна маса, розрахована на основі амінокислотної послідовності, складала 49,2 кДа для важкого ланцюга і 51,9 кДа для легкого ланцюга GA201, зціпленого з scFv, що свідчить про глікозилюванні обидвох ланцюгів в HEK293-клітинах.

Таблиця 3

Узагальнені дані про результати одержання і очистки активованих протеазою GA201 IgГ (фіг. 28) і контрольних молекул GA201 (фіг. 29)

Молекула	Супернатант	Білок А - вихід	SEC - вихід
1	1,0 л	1,3 мг	0,4 мг
2	1,0 л	26,4 мг	24 мг

Приклад 14

Маскуючий ефект антиідіотипового scFv по відношенню до GA201 IgG

Ефективність маскування зв'язування HER1 GA201 за допомогою N-кінцевого злиття антиідіотипового GA201 scFv продемонстровано за допомогою FACS-аналізу на клітинах H322M, що експресують HER1 і за допомогою аналізу методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR) на сенсибілізованій HER1 поверхні чипу. Для протеолітичного розщеплення GA201-анти-GA201-scFv застосовували рекомбінантну активну людську MMP2 (фірма Calbiochem). 1 мг антиідіотипового GA201 scFv, зшитого з GA201 за допомогою гліцин-серинового лінкера, що містить сайт розщеплення MMP, інкубували з 1,2 мкг MMP2 протягом ночі при 37 °С в ЗФР.

Для FACS-аналізу зв'язування HER1 розщепленої і нерозщепленої молекули GA201-анти-GA201-scFv застосовували лінію клітин немілкоклітинного раку легені H322M. Густину клітин доводили до 1×10^6/мл і вносили в 96-лунковий круглодонний планшет. Додавали молекули та інкубували на льду протягом 30 хв. Клітини промивали одноразово FACS-буфером (ЗФР + 2 % FCS+0,1 % азиду натрію) і ресуспендували з кон'югованим з ФІТЦ F(ab")2-фрагментом козячого антилюдського IgG-Fc як вторинного антитіла (фірма ThermoFisher Scientific). Після витримування ще протягом 20 хв на льду клітини промивали двічі і ресуспендували в FACS-буфері та аналізували за допомогою пристрою BD FACS Canto II. Оцінювали 10000 клітин і для аналізу використовували медіану сигналу флуоресценції. До розщеплення за допомогою MMP-2 молекули GA201-анти-GA201-scFv не виявлено зв'язування з HER1, що піддається вимірюванню, на H322M-клітинах, що свідчить про повне маскування зв'язуючих доменів GA201 антиідіотиповим scFv (фіг.31). Зв'язування нерозщепленої молекули GA201-анти-GA201-scFv виявилося зіставним з зв'язуванням неспецифічного запо відношенню дого як контроль ізотипу IgG антитіла (фіг. 31). На противагу цьому, розщеплення за допомогою MMP антиідіотипового scFv призводило до активації GA201, і зв'язування з HER1 на H322M-клітинах відновлювалось до рівней, схожих з рівнями незамаскованого батьківського антитіла GA201 (фіг. 31)

Для підтвердження отриманих за допомогою FACS результатів зв'язування замаскованого GA201 після розщеплення за допомогою MMP при створенні винаходу здійснювали також експеримент із застосуванням SPR-аналізу як іншого аналітичного методу з використанням пристрою Biacore T100 (фірма GE Healthcare Biosciences AB, Уппсала, Швеція). HER1 імобілізовували на поверхні біосенсорного чіпа CM5 за допомогою стандартного методу амінного сполучення. Позаклітинний домен HER1 ін'єктували в натрій-ацетатному буфері, pH 5,0 в концентрації 1 мкг/мл. Контрольні проточні референс-комірки обробляли аналогічним

чином, але використовуючи тільки буфер як носій. Молекули GA201-анти-GA201-scFv до і після розщеплення протягом ночі за допомогою MMP і GA201 розводили в 1×ЗФР, pH 7,4, 0,05 % Твін20 (фірма Roche Diagnostics GmbH) та ін'єктували в зростаючих концентраціях від 3,125 і до 50нМ зі швидкістю потоку 30 мкл/хв. Фаза асоціації складала 3 хв, а фаза дисоціації складала 10 хв. Зв'язування HER1 відновлювали шляхом ін'єкції 0,85 % фосфорної кислоти протягом 30 с зі швидкістю потоку 5 мкл/хв. Кінетичні константи швидкості і константи рівноваги дисоціації розраховували, використовуючи модель зв'язування 1:1 Ленгмюра, за допомогою програмного забезпечення Biaevaluation. Величина K_D, що складає 1нМ, що характеризує зв'язування HER1, встановлена для батьківського незамаскованого антитіла GA201 (фіг. 32). Після інкубації протягом ночі з MMP-2 для молекули GA201-анти-GA201-scFv встановлена величина K_D 2нМ хі схожими з незамаскованим контрольним антитілом константами швидкості асоціації і дисоціації (k_a і k_d), що свідчить про повне відновлення здатності зв'язуватись з HER1 в результаті розщеплення протеазою (фіг. 32). Для нерозщепленої молекули GA201-анти-GA201-scFv не виявлено жодне зв'язування з HER1 при використанні SPR-аналізу (фіг. 32). В сукупності, при створенні винаходу продемонстрована повна втрата здатності зв'язуватись з HER1 після злиття антиідіотипового scFv з N-кінцем антитіла IgG1-підкласу GA201 з використанням двох незалежних аналітичних методів. Крім того, встановлено, що зв'язування з HER1 повністю відновлювалось після видалення scFv за допомогою розщеплення протеазою в сайті розщеплення MMP в гліцин-сериновому лінкері.

Приклад 15

Одержання анти-FolR1/анти-CD3 і анти-мезотелін/анти-CD3 зв'язуючих Т-клітини біспецифічних (TCB) молекул з анти-CD3 scFv

Одержували декілька зв'язуючих Т-клітини біспецифічних (TCB) молекул з різними антиідіотиповими scFv, і вони схематично зображені на фіг. 33А-К під відповідним їм ID-номером. Одержували наступні молекули:

ID 8364: "FolR1 16D5 2+1 IgG, класичний формат (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - сайт MMP9 - матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з FolR1 VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і лінкером із сайтом протеази MMP9-MK062" (фіг. 33А, SEQ ID NO: 1, 3 і 72).

ID 8363: "FolR1 16D5 2+1 IgG, класичний формат (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - сайт MMP9 - матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з FolR1 VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і лінкером із сайтом протеази катепсину S/B" (фіг. 33Б, SEQ ID NO: 1, 3 і 85).

ID 8365: "FolR1 16D5 2+1 IgG, інвертований формат (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - лінкер із сайтом матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з CD3 VL - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і лінкером із сайтом матриптази MK062" (фіг. 33В, SEQ ID NO: 1, 3, 73 і 74).

ID 8366: "FolR1 16D5 2+1 IgG, інвертований формат (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - нерозщеплюваний GS-лінкер - CD3 злитий на N-кінці з CD3 VL - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і нерозщеплюваним GS -лінкером" (фіг. 33Г).

ID 8672: "антитіло до мезотеліну (а-мезотелін) 2+1 IgG, класичний формат, MSLN-заряджені варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - сайт MMP9 - матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з VH антитіла до мезотеліну - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і сайтом MMP9 - матриптази MK062" (фіг. 33Д, SEQ ID NO: 77, 78, 81, 82).

ID 8673: "антитіло до мезотеліну 2+1 IgG, класичний формат, MSLN-заряджені варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 -нерозщеплюваний GS-лінкер - CD3 злитий на N-кінці з VH антитіла до мезотеліну - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63, нерозщеплюваним GS- лінкером" (фіг. 33Е).

ID 8674: "антитіло до мезотеліну 2+1 IgG, інвертований формат, MSLN-заряджені варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - сайт MMP9 - матриптази MK062-CD3 злитий на N-кінці з CD3 VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і сайтом MMP9 - матриптаза MK062" (фіг. 33Ж, SEQ ID NO: 76, 77, 78, 79).

ID 8675: "антитіло до мезотеліну 2+1 IgG, інвертований формат, MSLN-заряджені варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 -нерозщеплюваний GS-лінкер - CD3 злитий на N-кінці з CD3 VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і нерозщеплюваним GS-лінкером" (фіг. 33З).

ID 8505: "антитіло до мезотеліну 2+1 IgG, інвертований формат, MSLN-заряджені варіанти, CD3 (HC антитіла до мезотеліну, злита на N-кінці з CD3 VL - інертний Fc)" (фіг. 33І).

ID 8676: "антитіло до мезотеліну 2+1 IgG, класичний формат, MSLN-заряджені варіанти, схрещений CD3 (антитіло до мезотеліну IgG-підкласу з CD3 - злитому на N-кінці з VH антитіла до мезотеліну - інертний Fc)" (фіг. 33К)

Варіабельні домени субклонували в рамці зчитування з попередньо вбудованими у

відповідний застосовуваний як реципієнт експресійний вектор для клітин ссавців доменами. Експресія білка перебувала під контролем MPSV-промотора і на 3'-кінці CDS була присутня синтетична сигнальна поліА-послідовність. Крім того, кожний вектор містив послідовність OriP EBV.

Молекули (за винятком 8505, цю молекулу одержували шляхом спільної трансфекції CHO-клітин, зростаючих в суспензії, з експресійними векторами для клітин ссавців. Короткочасну трансфекцію здійснювали на фірмі Evitria AG (Швейцарія)) одержували шляхом спільної трансфекції зростаючих в суспензії клітин HEK293-EBNA експресійними векторами для клітин ссавців з використанням поліетиленіміну (ПЕІ). Для трансфекції клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій культуральному середовищі Excell, що містить 6мМ L-глутамін і 250 мг/л культурального середовища G418. Для виробництва висівали в центрифужні флакони місткістю 600 мл (максимальний робочий об'єм 400 мл) 800 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції без G418. Для трансфекції 800 млн клітин центрифугували протягом 5 хв при 210×g, і супернатант заміняли 40 мл попередньо нагрітим середовищем CD CHO, що містить 6мМ L-глутамін. Експресійні вектори змішували в 40 мл середовища CD CHO, яке містить 6мМ L-глутамін, для одержання кінцевої кількості ДНК 400 мкг. Після додавання 1080 мкл розчину ПЕІ (2,7 мкг/мл) суміш інтенсивно перемішували протягом 15 с і потім інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/ПЕІ, переносили в 600-мілілітровий центрифужний флакон та інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері, що містить 5 % CO_2. Після інкубації додавали 320 мл середовища Excell+6мМ L-глутамін + 5 г/л Pepsoy+1,0мМ VPA+3 г/л глюкози, і клітини культивували протягом 24 год. перед здійсненням підживлення 7 % Feed 7. Після культивування протягом 6-7 днів супернатант збирали для очистки шляхом центрифугування протягом 20-30 хв при 210×г (центрифуга Sigma 8K). Розчин стерилізували фільтрацією (фільтр з розміром пор 0,22 мкм) і додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.). Розчин зберігали при 4 °C до очистки. Секретований білок очищували із супернатантів клітинних культур за допомогою афінної хроматографії, застосовуючи афінну хроматографію на білку A, з наступною(ними) однією або двома стадією(ями) гель-фільтрації.

Для проведення афінної хроматографії супернатант вносили на колонку білок A MabSelectSure (CV=5 мл, фірма GE Healthcare), врівноважену буфером, що містить 20мМ цитрат натрію, 20мМ фосфат натрію, pH 7,5. Незв'язаний білок видаляли промиванням, використовуючи об'єм буфера, який дорівнює принаймні 10 об'ємам колонки, що містить 20мМ цитрат натрію, 20мМ фосфат натрію, pH 7,5, а необхідний білок елюювали, застосовуючи об'єм буфера, що дорівнює 20 об'ємам колонки (градієнт від 0 % до 100 %), що містить 20мМ цитрат натрію, 100мМ хлорид натрію, 100мМ гліцин, pH 3,0. Розчин білка нейтралізували, додаючи 1/10 0,5М Na_2HPO_4, pH 8,0. Необхідний білок концентрували за допомогою ультра-концентратора Amicon®Ultra-15 Ultracel 30K (фірма Merck Millipore Ltd.) до об'єма, що складає максимум 4 мл, перед завантаженням на колонку HiLoad Супердекс 200 (фірма GE Healthcare), врівноважену буфером, що містять 20мМ гістидин, 140мМ хлорид натрію, 0,01 % Твін, pH 6,0.

Концентрацію білків в очищених білкових зразках визначали, вимірюючи оптичну густину (ОГ) при 280 нм, здійснюючи ділення на коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності.

Чистоту і молекулярну масу молекул після кінцевої стадії очистки аналізували за допомогою КЕ-ДСН-аналізів в присутності відновлювача або без нього. Застосовували систему Caliper LabChip GXII (фірма Caliper Lifescience) згідно з інструкцією виробника.

Вміст агрегатів молекул визначали з використанням колонки для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), застосовуючи рухомий буфер, який містить 25мМ K_2HPO_4, 125мМ NaCl, 200мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN_3, pH 6,7 при 25 °C.

Кінцева якість всіх молекул виявилась високою іїз вмістом мономерів ≥ 95 %.

Таблиця 4

Узагальнені дані про результати одержання і очистки активованих протеазою ТСВ-молекул

Молекула	Титр [мг/л]	Вихід [мг/л]	АналітичнаSEC (HMW/мономер/LMW) [%]
1 (8364)	34,55	1,72	0,68/99,32/0
2 (8363)	33,75	1,59	4,02/95,98/0
3 (8365)	5,35	0,24	2,71/96,46/0,83
4 (8366)	4,2	0,43	4,908/96,02/0

Таблиця 4

Узагальнені дані про результати одержання і очистки активованих протеазою ТСВ-молекул

Молекула	Титр [мг/л]	Вихід [мг/л]	АналітичнаSEC (HMW/мономер/LMW) [%]
5 (8672)	13,8	1,59	3,96/96,04/0
6 (8673)	14	1,99	2,15/97,85/0
7 (8674)	3,6	0,96	6,27/93,73/0
8 (8675)	5,2	0,59	5,81/90,63/3,57
9 (8505)	120	20,46	0,47/99,32/0,22
10 (8676)	22,5	3,84	1,98/96,21/1,81

Приклад 16

Контроль якості і стабільність - аналіз методом капілярного електрофорезу в присутності ДСН різних ТСВ-молекул

Чистоту і молекулярну масу молекул після кінцевої стадії очистки аналізували за допомогою КЕ-ДСН-аналізів в присутності відновлювача або без нього. Застосовували систему Caliper LabChip GXII (фірма Caliper Lifescience) відповідно до інструкції виробника. Здійснювали порівняння необроблених молекул (які зберігали при 4 °С), оброблених молекул (які обробляли відповідною рекомбінантною протеазою (фірма R&D Systems) протягом 24 год. при 37 °С і молекули, яку інкубували протягом 72 год. при 37 °С (фіг. 34, 35А і 35Б).

Порівняння необроблених і оброблених молекул продемонструвало повне розщеплення анти-ID scFv після обробки rh-матриптазою/ST14 у випадку інвертованого формата, що містить лінкер із сайтом матриптази MK062, але неповне розщеплення у випадку лінкера із сайтом MMP9-матриптаза MK062. Обробка rh-катепсином B і rh-катепсином S також не забезпечувала повне розщеплення. Умови для очищених ферментів не були оптимальними.

Пробіг молекул, інкубованих при 37 °С протягом 72 год., відповідав такій же висоті, що і пробіг чистих молекул, що дозволяє припустити, що молекули були стабільними при 37 °С протягом часу, що відповідає тривалості аналізу in vitro. Попередньо забарвлений білковий маркер Mark 12 (фірма Invitrogen) застосовували для визначення правильної молекулярної маси.

Приклад 17

Порівняння різних лінкерів і форматів активованих протеазою FolR1-TCB

Аналіз активації Jurkat NFAT. Здійснювали аналіз активації Jurkat NFAT для порівняння різних форматів і лінкерів в активованій протеазою ТСВ. Лінія репортерних клітин Jurkat-NFAT (фірма Promega) являє собою лінію репортерних клітин гострого людського лейкозу з промотором NFAT, що експресує людську CD3ε. Якщо ТСВ зв'язується з пухлиною-мішенню і CD3-зв'язуючий агент зв'язується (перехресне зшивання) з CD3ε, то експресію люциферази можна вимірювати на основі люмінесценції після додавання субстрату One-Glo (фірма Promega). 20000 клітин-мішеней висівали в 96-лунковий планшет з білими стінками і прозорим дном (фірма Greiner Bio-One), використовуючи 50 мкл /лунку середовища Jurkat (RPMI1640, 2 г/л глюкози, 2 г/л $NaHCO_3$, 10 % FCS, 25мМ HEPES, 2мМ L-глутамін, 1×NEAA, 1 ×піруват натрію) без гігроміцину. Планшети інкубували протягом приблизно 20 год. при 37 °С. Репортерні клітини Jurkat-NFAT збирали і визначали життєздатність за допомогою пристрою ViCell. Клітини ресуспендували в середовищі Jurkat без гігроміцину і додавали по 50 мкл на лунку (50000 клітин/лунку). Співвідношення E:T складало 2,5:1 (на основі кількості висіяних клітин). антитіла розводили в середовищі Jurkat без гігроміцину і додавали з розрахунку 50 мкл/лунку. Клітини інкубували при 37 °С протягом 6 год. у вологій камері, після чого їх вилучали з камери для адаптації до кімнатної температури приблизно за 10 хв для оцінки люмінесценції. В лунки додавали з розрахунку 50 мкл/лунку розчин ONE-Glo та інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі в темряві. Люмінесценцію визначали за допомогою ридера WALLAC Victor3 ELISA (PerkinElmer2030), тривалість детекції складала 1 с/лунку. Порівняння попередньо обробленої активованою протеазою ТСВ (8364, зафарбовані сірим кольором квадрати) і FolR1-TCB (чорні трикутники зі спрямованою вниз вершиною) продемонструвало, що ефективність після розщеплення повністю відновлювалась. Жодної люмінесценції не вдалось виявити в клітинах, які інкубували з замаскованої ТСВ (яка містить нерозщеплюваний GS-лінкер, сірі трикутники зі спрямованою вгору вершиною) і контрольною "ненаціленою" ТСВ (незафарбований трикутник зі спрямованою вниз вершиною) для обидвох ліній клітин у вказаному діапазоні концентрацій. Штриховою лінією позначена люмінесценція клітин-мішеней і ефекторних клітин без обробки

будь-якої ТСВ (фіг. 36А і 36Б).

Приклад 18

Цитотоксичність по відношенню до пухлинних клітин, обумовлена різними форматами активованою протеазою ТСВ

Опосередкований Т-клітинами цитоліз пухлинних клітин, обумовлений активованими протеазою ТСВ-молекулами, оцінювали на клітинних лініях, що експресують різноманітні рівні FolR1. Мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) людини виділяли з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, № H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) інтерфазу, що містить PBMC, переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax і 10 % ДМСО. PBMC повільно заморожували протягом ночі при -80 °C в контейнерах для заморожування клітин CoolCell® (фірма BioCision) і потім переносили в рідкий азот. За 1 день до початку аналізу прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети та інкубували протягом приблизно 20 год. при 37 °C у вологій камері. приблизно за 20 год. до початку аналізу PBMC піддавали відтаванню в середовищі RPMI1640 (10 % FCS, 1× GlutaMax). PBMC центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в свіжому середовищі (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) та інкубували протягом максимум 24 год. при 37 °C у вологій камері. За один день до початку аналізу PBMC збирали і центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в середовищі для аналізу і додавали до клітин-мішеней 0,2 млн PBMC з розрахунку 100 мкл/лунку (E:T 10:1, на основі кількості висіяних клітин-мішеней). Молекули розводили середовищем для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) і додавали з розрахунку 50 мкл/лунку у вказаних концентраціях в трьох повторностях, після чого планшети інкубували протягом приблизно 48 год. при 37 °C у вологій камері. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої ТСВ.

Результати (фіг. 37А і 37Б) представлені у вигляді порівняння двох різних форматів активованих протеазою ТСВ, які обидві містять антиідіотиповий CD3 scFv 4.32.63, зв'язаний з лінкером із сайтом матриптази MK062. Інвертований формат активованою протеазою ТСВ (8365, сірі кружечки), ймовірно, був більш ефективним по відношенню до цитолізу (клітини-мішені HeLa і Skov-3), ніж класичний формат активованою протеазою ТСВ (8408, темно-сірі трикутники зі спрямованою вгору вершиною). Проте інвертована молекула, що містить нерозщеплюваний лінкер (8366, світло-сірі квадрати), виявилась менш ефективною з позицій маскування, ніж замаскована класична молекула (8409, темно-сірі трикутники зі спрямованою вниз вершиною).

На фіг. 37В представлені дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней HeLa. Здійснювали порівняння класичної активованої протеази ТСВ, яка містить антиідіотиповий CD3 scFv 4.32.63 і GS-лінкери з різними сайтами, що розпізнається, і протеазою. Активована протеазою ТСВ, що містить лінкер із сайтом MMP9-матриптази MK062 (8364, сірі квадрати) виявилась більш ефективною, ніж FolR1 ТСВ (світло-сірі трикутники зі спрямованою вниз вершиною), в той час як активована протеазою ТСВ, що містить лінкер тільки із сайтом матриптази MK062 (світло-сірий ромб), виявилась менш ефективною по відношенню до клітин HeLa. Ефективність молекул, які містять сайт катепсину (сірі кружечки) або нерозщеплюваний лінкер (чорні трикутники зі спрямованою вниз вершиною), виявилась зіставною.

На фіг. 37Г представлені дані про цитотоксичність по відношенню до клітин-мішеней Skov-3. Здійснювали порівняння класичної активованої протеази ТСВ, яка містить антиідіотиповий CD3 scFv 4.43.63 і GS-лінкери з різними сайтами, що розпізнається, і протеазою. активована протеазою ТСВ, що містить лінкер із сайтом MMP9-матриптази MK062 (8364, сірі квадрати), практично мала таку ж ефективність, що і FolR1-ТСВ (світло-сірі трикутники зі спрямованою

вниз вершиною), в той час як активована протеазою TCB, що містить лінкер тільки із сайтом матриптази MK062 (світло-сірий ромб) виявилась менш ефективною по відношенню до цитолізу клітин Skov-3. Молекула, що містить сайт катепсину (сірі окружності) виявилась менш ефективною, ніж молекула, що містить тільки сайт матриптази MK062, молекула, що містить нерозщеплюваний лінкер (чорні трикутники зі спрямованою вниз вершиною), індукувала у вказаних концентраціях цитоліз лише менше 10 % клітин Skov-3.

Приклад 19

Т-клітинна активація після спільної інкубації епітеліальних клітин кіркової речовини нирок людини або бронхіальних епітеліальних клітин людини з TCB і людськими PBMC

Активацію Т-клітин, опосередковану активованими протеазою TCB- молекулами, оцінювали з використанням клітин HRCEpi (епітеліальні клітини кіркової речовини нирок людини) і HBEpiC (бронхіальні епітеліальні клітини людини), що експресують лише невисокі кількості FolR1. Людські PBMC використовували як ефекторних клітин і здійснювали фарбування маркерів Т-клітинної активації після інкубації протягом 48 год. з молекулами і клітинами. Мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) людини виділяли з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, № H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) інтерфазу, що містить PBMC, переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax і 10 % ДМСО. PBMC повільно заморожували протягом ночі при -80 °C в контейнерах для заморожування клітин CoolCell® (фірма BioCision) і потім переносили в рідкий азот. За 1 день до початку аналізу прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети та інкубували протягом приблизно 20 год. при 37 °C у вологій камері. приблизно за 20 год. до початку аналізу PBMC піддавали відтаванню в середовищі RPMI1640 (10 % FCS, 1× GlutaMax). PBMC центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в свіжому середовищі (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) та інкубували протягом максимум 24 год. при 37 °C у вологій камері. За один день до початку аналізу PBMC збирали і центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в середовищі для аналізу і додавали до клітин-мішеней 0,2 млн PBMC з розрахунку 100 мкл/лунку (E:T 10:1, співвідношення визначали на основі кількості висіяних клітин-мішеней). Молекули розводили середовищем для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) і додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях, після чого планшети інкубували протягом приблизно 48 год. при 37 °C у вологій камері.

Т-клітинну активацію оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного визначення CD25 і CD69 на CD4-позитивних і CD8-позитивних Т-клітинах. FolR1 16D5 TCB (6298) і "ненацілену" TCB (яка зв'язується з CD3, але не зв'язується з антигеном клітини-мішені, 7235) включали як контролі. Кожна точка відповідає середньому значенню, отриманому за трьома повторностями, для PBMC з трьох різних донорів. Стандартне відхилення позначено планками похибок. Для статистичного аналізу використовували непарний t-критерій. Результати продемонстрували підвищення рівня CD69 в CD8-позитивних клітинах при використанні FolR1-TCB, що суттєво перевищував медіанну інтенсивність флуоресценції, встановлену для активованих протеазою TCB (фіг. 38А і 38Б).

Приклад 20

Цитотоксичність по відношенню до пухлинних клітин, опосередкована різними форматами активованою протеазою що зв'язується з мезотеліном (MSLN) TCB

Опосередкований Т-клітинами цитоліз пухлинних клітин, обумовлений активованими протеазою TCB-молекулами, оцінювали на клітинних лініях, що експресують різноманітні рівні мезотеліну (MSLN). Мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) людини виділяли з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, №H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) інтерфазу, що містить PBMC, переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при

37 °C протягом приблизно 2 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax і 10 % ДМСО. PBMC повільно заморожували протягом ночі при -80 °C в контейнерах для заморожування клітин CoolCell® (фірма BioCision) і потім переносили в рідкий азот. За 1 день до початку аналізу прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети та інкубували протягом приблизно 20 год. при 37 °C у вологій камері. приблизно за 20 год. до початку аналізу PBMC піддавали відтаванню в середовищі RPMI1640 (10 % FCS, 1× GlutaMax). PBMC центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в свіжому середовищі (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) та інкубували протягом максимум 24 год. при 37 °C у вологій камері. За один день до початку аналізу PBMC збирали і центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в середовищі для аналізу і додавали до клітин-мішеней 0,2 млн PBMC з розрахунку 100 мкл/лунку (E:T 10:1, співвідношення визначали на основі кількості висіяних клітин-мішеней). Молекули розводили середовищем для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) і додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях, після чого планшети інкубували протягом приблизно 48 год. при 37 °C у вологій камері. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB.

Результати (фіг. 39А і 39Б) дозволили виявити цитоліз клітин-мішеней, опосередкований активованою протеазою MSLN TCB (8672) по відношенню до клітинних ліній NCI H596 і AsPC-1. Активовані протеазою TCB практично відповідали ефективності MSLN TCB (8676) по відношенню до клітин NCI H596 і AsPC-1. Молекула, що містить нерозщеплюваний GS-лінкер (8673), не індукувала цитоліз обидвох ліній клітин у вказаному діапазоні концентрацій.

Приклад 21

Репортерний аналіз Jurkat-NFAT для моніторингу експресії мішені (FOLR1-TCB) і протеазної активності (активована протеазою FOLR1 TCB) в зразках первинних пухлин.

Метою даного аналізу було вивчення експресії пухлинного антигена-мішені (FolR1) і активності пухлинаспецифічних протеаз типу MMP9, матриптази або катепсину, в зразках людськими пухлин.

Лінія репортерних клітин Jurkat-NFAT (фірма Promega) являє собою лінію репортерних клітин гострого людського лейкозу з промотором NFAT, що експресує людську CD3ε. Якщо біспецифічна молекула, що активує Т-клітини зв'язується з пухлиною-мішенню і з CD3ε (перехресне зшивання), то можна вимірювати експресію люциферази. Люмінесценцію вимірюють після додавання субстрату One-Glo (фірма Promega).

Зразки первинних пухлин одержували від фірми Indivumed GmbH, Німеччина. Зразки доставляли протягом ночі в середовищі для транспортування. приблизно через 24 год. після хірургічної процедури зразок розрізали на невеликі шматочки. Підготовлювали 96-лунковий планшет з білими стінками, плоским (прозорим) дном шляхом додавання 18 мкл холодного матригелю (Matrigel (734-1101, фірма Corning/VWR). Планшет інкубували протягом 2 хв при 37 °C перед внесенням шматочків пухлини (в трьох повторностях). По 33 мкл холодного матригелю додавали на лунку і планшет інкубували знову протягом 2 хв при 37 °C. По 50 мкл розведення антитіла (в середовищі Jurkat без гігроміцину, але яке містить 2× пеніцилін/стрептоміцин) додавали на лунку і планшет інкубували протягом приблизно 48 год. при 37 °C, 5 % CO_2.

Репортерні клітини Jurkat-NFAT збирали і визначали життєздатність за допомогою пристрою ViCell. Клітини центрифугували при 350×g, 7 хв, після чого ресуспендували в середовищі Jurkat без гігроміцину і додавали по 50 мкл на лунку (50000 клітин/лунку). Планшет інкубували протягом 5 год. при 37 °C у вологій камері, після чого вилучали для визначення люмінесценції. По 80 мкл вмісту з кожної лунки переносили в 96-лунковий планшет з білими стінками. В кожну лунку додавали 27 мкл/лунку розчину ONE-Glo та інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі в темряві. Люмінесценцію визначали за допомогою ридера WALLAC Victor3 ELISA (PerkinElmer2030), тривалість детекції складала 1 с/лунку.

Репортерні клітини Jurkat NFAT активувались після спільної інкубації з FolR1-TCB (6298) і

активованою протеазою FolR1-TCB, яка містить сайт розщеплення MMP9-матриптазою (8364). Активовані протеазою FolR1 TCB (8363, 8408) і контрольні TCB (8409, 7235) не індукували експресію люциферази. Штриховою лінією позначена базисна лінія люмінесценції для клітин Jurkat NFAT, які спільно інкубували з пухлиною (фіг. 40).

Приклад 22

Стабільність в сироватці активованих протеазою TCB

Капілярний електрофорез активованих протеазою TCB після інкубації в людській сироватці. Молекули інкубували протягом 0 або 14 днів в людській сироватці з низьким вмістом IgG при 37 °C у вологій камері (5 % CO_2). Всі молекули очищували афінною хроматографією (білок A) і потім аналізували за допомогою капілярного електрофорезу.

100 мкг кожної молекули додавали або в буфер (гістидиновий буфер (фірма Bichsel) з 0,01 % Твін-20), або в людську сироватку (з низьким вмістом IgG, SP1839, TL-15216, 16FSP63814). Концентрація молекул перевищувала 2 мг/мл і кінцева концентраціяскладала 0,5 мг/мл. Попередню обробку однієї молекули (8408) здійснювали за допомогою rh-матриптази (фірма R&D Systems) протягом 24 год. при 37 °C, 5 % CO_2 у вологій камері (в іншому випадку значення pH сироватки могло змінюватись). Зразки, відповідні зберіганню протягом 0 днів, безпосередньо заморожували в рідкому азоті і зберігали при - 80 °C до аналізу. Зразки, відповідні зберіганню протягом 14 днів, інкубували протягом 14 днів при 37 °C, 5 % CO_2 у вологій камері, після чого їх також швидко заморожували.

Перед аналізом методом КЕ-ДСН всі зразки очищували за допомогою афінної PXBP-хроматографії (пристрій Agilent technologies 1200series, колонка: Upchurch-специфічна C-130B, матеріал для упаковки колонки: Applied Biosystems POROS 20A 60 мкл, буфер: 10мМ Трис, 50мМ гліцин, 500мМ NaCl, pH 8,0 і pH 2,0, ін'єктований об'єм: 100 мкл, швидкість потоку 1 мл/хв, збір: на основі піку, нейтралізація: 0,5М Na-фосфат pH 8,0, 10 % об'єму). активована протеазою TCB виявилась стабільною в людській сироватці з низьким вмістом IgG протягом мінімум 14 днів (фіг. 41A-B).

Приклад 23

Створення анти-HER2/анти-CD3 і анти-FolR1/анти-CD3 (активуючих) Т-клітини біспецифічних (TCB) молекул з анти-CD3 scFv

Одержували декілька (активуючих) Т-клітини біспецифічних (TCB), і вони схематично зображені на фіг. 42A-E під відповідним їм ID-номером. Одержували наступні молекули:

ID 8955: "Herceptarg 2+1 IgG, класичний формат, заряджені Herceptarg варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - MMP9 - матриптаза MK062-CD3 злитий на N-кінці з Herceptarg VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і сайтом MMP9 - матриптази MK062" (фіг. 42A, SEQ ID NO: 81, 132, 133 і 136).

ID 8957: "Herceptarg 2+1 IgG, класичний формат, заряджені Herceptarg варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63-нерозщеплюваний GS-лінкер - CD3 злитий на N-кінці з Herceptarg VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і нерозщеплюваним GS-лінкером" (фіг. 42Б, SEQ ID NO: 81, 132, 133 і 135).

ID 8959: "Herceptarg 2+1 IgG, класичний формат, заряджені Herceptarg варіанти, схрещений CD3 (Herceptarg IgG з CD3 злитий на N-кінці з Herceptarg VH - інертний Fc)" (фіг. 42B, SEQ ID NO: 81, 132, 133 і 134).

ID 8997: "FolR1 36F2 2+1 IgG, класичний формат, заряджені FolR1 36F2 варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - MMP9 - матриптаза MK062-CD3 злитий на N-кінці з FolR1 36F2 VH - інертний Fc) зі злитим на N-кінці анти-CD3 scFv 4.32.63 і сайтом MMP9 - матриптази MK062" (фіг. 42Г, SEQ ID NO: 81, 137, 138 і 139).

ID 8998: "FolR1 36F2 2+1 IgG, класичний формат, заряджені FolR1 36F2 варіанти, схрещений CD3 (антиідіотиповий scFv 4.32.63 - нерозщеплюваний GS-лінкер - CD3 злитий на N-кінці з FolR1 36F2 VH - інертний Fc) з N-кінцевим злиттям анти-CD3 scFv 4.32.63 і нерозщеплюваним GS-лінкером" (фіг. 42Д, SEQ ID NO: 81, 137, 138 і 140).

ID 8996: "FolR1 36F2 2+1 IgG, класичний формат, заряджені FolR1 36F2 варіанти, схрещений CD3 (FolR1 36F2 IgG з CD3 злитий на N-кінці з FolR1 36F2 VH - інертний Fc)" (фіг. 42E, SEQ ID NO: 81, 137, 138 і 141).

Варіабельні домени субклонували в рамці зчитування з попередньо вбудованими у відповідний застосовуваний як реципієнт експресійний вектор для клітин ссавців доменами. Експресія білка знаходилась під контролем промотора MPSV або CMV (для Herceptarg), і синтетична сигнальна поліA-послідовність була присутня на 3'-кінці CDS. Крім того, кожний вектор містив послідовність OriP EBV.

Приклад 24

Цитотоксичність по відношенню до первинних клітин, опосередкована активованою

протеазою FolR1 TCB

Опосередкований Т-клітинами цитоліз, обумовлений активованою протеазою FolR1-TCB-молекулою, оцінювали на первинних клітинних лініях, що експресують низькі рівні FolR1 (фіг. 43). Мононуклеарні клітини периферійної крові (PBMC) людини виділяли з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, № H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) інтерфазу, що містить PBMC, переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax і 10 % ДМСО. PBMC повільно заморожували протягом ночі при -80 °C в контейнерах для заморожування клітин CoolCell® (фірма BioCision) і потім переносили в рідкий азот. За 1 день до початку аналізу прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували в середовищі для аналізу (RPMI 1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети та інкубували протягом приблизно 20 год. при 37 °C у вологій камері. приблизно за 20 год. до початку аналізу PBMC піддавали відтаванню в середовищі RPMI1640 (10 % FCS, 1× GlutaMax). PBMC центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в свіжому середовищі (RPMI 1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) та інкубували протягом максимум 24 год. при 37 °C у вологій камері. За один день до початку аналізу PBMC збирали і центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в середовищі для аналізу і додавали до клітин-мішеней 0,2 млн PBMC з розрахунку 100 мкл/лунку (E:T 10:1, співвідношення визначали на основі кількості висіяних клітин-мішеней). Молекули розводили середовищем для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) і додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях, після чого планшети інкубували протягом приблизно 48, 72 і 96 год. при 37 °C у вологій камері. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48, 72 і 96 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB.

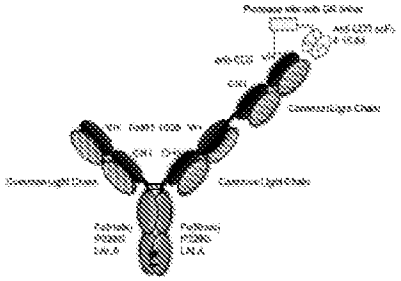
Токсичність по відношенню до бронхіальних епітеліальних клітин людини, опосередкована людськими PBMC і 100нМ або 10нм FolR1-TCB виявилась вище, ніж при використанні активованою протеазою TCB.

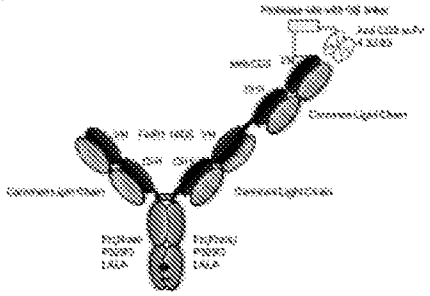
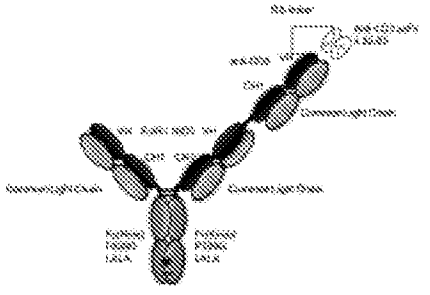
Приклад 25

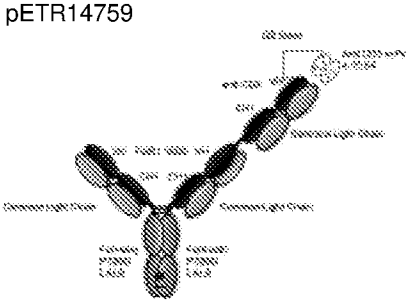
Цитотоксичність по відношенню до FolR1-негативних клітин, опосередкована активованою протеазою FolR1 TCB

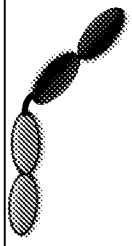
Опосередкований Т-клітинами цитоліз, обумовлений активованою протеазою FolR1-TCB-молекулою, оцінювали на FolR1-негативній клітинній лінії Mkn-45 (фіг. 44). Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) людини виділяли з лейкоцитарних плівок, які одержували із здорових донорів. Лейкоцитарну плівку розводили в співвідношенні 1:1 стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, № H8889). Після центрифугування (450×g, 30 хв, без перерви, кімнатна температура) інтерфазу, що містить PBMC, переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400×g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали і дебрис PBMC ресуспендували в 2 мл ACK-буфера для лізису еритроцитів. Після інкубації при 37 °C протягом приблизно 2-3 хв пробірки заповнювали стерильним ЗФР до 50 мл і центрифугували при 350×g протягом 10 хв. Вказану стадію промивання повторювали одноразово перед ресуспендуванням PBMC в середовищі RPMI1640, що містить 2 % FCS і 1× GlutaMax і 10 % ДМСО. PBMC повільно заморожували протягом ночі при -80 °C в контейнерах для заморожування клітин CoolCell® (фірма BioCision) і потім переносили в рідкий азот. За 1 день до початку аналізу прикріплені клітини-мішені збирали за допомогою трипсину/ЕДТА, підраховували, перевіряли життєздатність і ресуспендували в середовищі для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax). Клітини-мішені висіювали з густиною 20000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети та інкубували протягом приблизно 20 год. при 37 °C у вологій камері. приблизно за 20 год. до початку аналізу PBMC піддавали відтаванню в середовищі RPMI1640 (10 % FCS, 1× GlutaMax). PBMC

центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в свіжому середовищі (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) та інкубували протягом максимум 24 год. при 37 °C у вологій камері. За один день до початку аналізу PBMC збирали і центрифугували при 350×g протягом 7 хв. Дебрис ресуспендували в середовищі для аналізу і додавали до клітин-мішеней 0,2 млн PBMC з розрахунку 100 мкл/лунку (E:T 10:1, співвідношення визначали на основі кількості висіяних клітин-мішеней). Молекули розводили середовищем для аналізу (RPMI1640, 2 % FCS, 1× GlutaMax) і додавали у вказаних концентраціях в трьох повторностях, після чого планшети інкубували протягом приблизно 48 і 72 год. при 37 °C у вологій камері. цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 48, 72 і 96 год. при 37 °C, 5 % CO_2 шляхом кількісного аналізу вивільнення ЛДГ в клітинні супернатанти апоптозними/ некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, № 11644793001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней в присутності 1 % Тритону X-100 протягом 20 год. до визначення ЛДГ. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без будь-якої TCB. активована протеазою TCB не индукувала цитоліз клітин-мішеней при застосуванні в концентрації 100нМ.

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Загальний легкий ланцюг LC pETR13197	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	1
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv15-сайт матриптази MK062 CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR15422 	QIQLVQSGPELKKPGETVRISCKASGYTFTDYSIHWVKQAPG KCLKWMGWINTETGEPAYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQI NNLKNEDTATFFCAHPYDYDVLDYWGQGTSVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDTVLTQSPASLGVSLGQRATISCRA SKSVSTSNYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYVSYLESGVPARFS GSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSREFPWTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPG KGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	2
FolR1 16D5 VH CH1 Fc "западина" P329G LALA HRYF, pETR15214	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQA PGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK	3

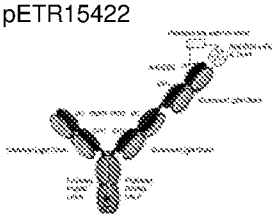
Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MK062 CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR15599 	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPG KGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	4
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR15603 	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPG KGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	5

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv15 нерозщеплюваний лінкер CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR14759 	QIQLVQSGPELKKPGETVRISCKASGYTFTDYSIHWVKQAPG KCLKWMGWINTETGEPAYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQI NNLKNEDTATFFCAHPYDYDVLDYWGQGTSVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDTVLTQSPASLGVSLGQRATISCRA SKSVSTSNYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYVSYLESGVPARFS GSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSREFPWTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPG KGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	6
Лінкер із сайтом протеази MK062	GGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSGGGGSGGGGS	7
Лінкер з об'єднаними сайтами NF9/Mat5	GGGGSVHMPLGFLGPGRSRGSFPGGGGS	8
Лінкер з об'єднаними сайтами MK062 MMP9	GGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSVPLSLYSGGGGGSGG GGS	9
Лінкер з об'єднаними сайтами MK062 MMP9	GGGGSGGGGSRQARVVNGVPLSLYSGGGGGSGGGGS	10
H2527, CDR H1 за Кеботом	TYAMN	11
CH2527, CDR H2 за Кеботом	RIRSKYNNYATYYADSVKG	12
CH2527, CDR H3 за Кеботом	HGNFGNSYVSWFAY	13
FolR1, CDR H1 за Кеботом	NAWMS	14
FolR1, CDR H2 за Кеботом	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	15
FolR1, CDR H3 за Кеботом	PWEWSWYDY	16
CLC, CDR1 L1 за Кеботом	GSSTGAVTTSNYAN	17
CLC, CDR L2 за Кеботом	GTNKRAP	18
CLC, CDR L3 за Кеботом	ALWYSNLWV	19
анти-ID 4.15.64, CDR H1 за Кеботом	DYSIH	20
анти-ID 4.15.64, CDR H2 за Кеботом	WINTETGEPAYADDFKG	21
анти-ID 4.15.64, CDR H3 за Кеботом	PYDYDVLDY	22
анти-ID 4.15.64 CDR L1 за Кеботом	RASKSVSTSNYSYIH	23
анти-ID 4.15.64, CDR L2 за Кеботом	YVSYLES	24
анти-ID 4.15.64, CDR L3 за Кеботом	QHSREFPWT	25
анти-ID 4.32.63, CDR H1 за Кеботом	SYGVS	26
анти-ID 4.32.63, CDR H2 за Кеботом	IIWGDGSTNYHSALIS	27
анти-ID 4.32.63, CDR H3 за Кеботом	GITTVVDDYYAMDY	28
анти-ID 4.32.63, CDR L1 за Кеботом	RASENIDSYLA	29
анти-ID 4.32.63, CDR L2 за Кеботом	AATFLAD	30
анти-ID 4.32.63, CDR L3 за Кеботом	QHYYSTPYT	31

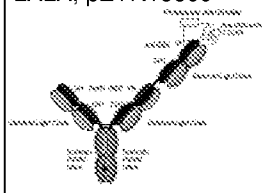
Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Анти-HER1 (GA201, важкий ланцюг, pUC-Exp-GA201-HC) 	qvqlvqsgaevkkpgssvkvsckasgftftdykihwvrqap gqglewmgyfnpnsgystyaqkfqgrvtitadkststaym elsslrsedtavyycarlspggyyvmdawgqgttvtvssa stkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswn sgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicn vnhkpsntkvdkkvepkscdkthtcppcpapellggpsvfl fppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgve vhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvs nkalpapiektiskakgqprepqvytlppsrdeltknqvslt clvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk	32
Анти-HER1 (GA201, легкий ланцюг, pUC-Exp-GA201-LC)	diqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqginnylnwyqqkpg kapkrliyntnnlqtgvpsrfsgsgsgteftltisslqpedf atyyclqhnsfptfgqgtkleikrtvaapsvfifppsdeqlks gtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqd skdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksf nrgec	33
Анти-HER1 (анти-GA201 VH-VL scFv розщеплюваний MMP лінкер G4S GA201 легкий ланцюг, pUC-I_GA201_MMP_LC)	evqleqsgpvlvkpgtsvkmsckasgytftdyyinwiiqshg kclewigvinpdsggtdynqnfkgkatltvdkssttaymelt sltsedsavyycarrdsygfdywgqgttltvssggggsgg ggsggggsggggsdivltqtpkfllvpagdritmtckasls vtndvawyqqkpgqspkllyyasnrnagvpdrftgsgyg tdftftittlqaedlavyfcqqdytspptfgcgtkleirggg gsggggsgplglwsqggggsggggsggggsggdiqmtq spsslsasvgdrvtitcrasqginnylnwyqqkpgkapkrli yntnnlqtgvpsrfsgsgsgteftltisslqpedfatyyclq hnsfptfgqgtkleikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvv cllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdsty slsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec	34
Лінкер, який містить сайт протеази MMP	ggggsggggsgplglwsqggggsggggsggggsgg	35
Сайт, який розпізнається протеазою 1	RQARVVNG	36
Сайт, який розпізнається протеазою 2	VHMPLGFLGPGRSRGSFP	37
Сайт, який розпізнається протеазою 3	RQARVVNGXXXXXVPLSLYSG	38
Сайт, який розпізнається протеазою 4	RQARVVNGVPLSLYSG	39
Сайт, який розпізнається протеазою 5	plglwsq	40
4.15.64 антиідіотиповий scFv	QIQLVQSGPELKKPGETVRISCKASGYTFTDYSIHWVKQAPG KCLKWMGWINTETGEPAYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQI NNLKNEDTATFFCAHPYDYDVLDYWGQGTSVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDTVLTQSPASLGVSLGQRATISCRA SKSVSTSNYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYVSYLESGVPARFS GSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSREFPWTFGCGTKL EIK	41
4.32.63 антиідіотиповий scFv	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIK	42
Варіабельний важкий ланцюг анти-CD3 (VH)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVT VSS	43
(VH)_CDR1 важкого ланцюга CD3	TYAMN	44
(VH)_CDR2 важкого ланцюга CD3	RIRSKYNNYATYYADSVKG	45
(VH)_CDR3 важкого ланцюга CD3	HGNFGNSYVSWFAY	46

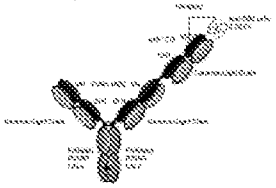
Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Варіабельна ділянка анти-FolR1 16D5	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQA PGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSS	47
Антиідіотиповий GA201, CDR H1 за Кеботом	dyyin	48
Антиідіотиповий GA201, CDR H2 за Кеботом	vinpdsggtdynqnfkg	49
Антиідіотиповий GA201, CDR H3 за Кеботом	rdsygfdy	50
Антиідіотиповий GA201, CDR L1 за Кеботом	kaslsvtndva	51
Антиідіотиповий GA201, CDR L2 за Кеботом	yasnrna	52
Антиідіотиповий GA201, CDR L3 за Кеботом	qqdytsppt	53
hu CD3	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSI SGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHL SLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENC MEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRG AGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQR RI	54
Загальний легкий ланцюг LC pETR13197, V-ділянка	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	55
GA201, CDR H1 за Кеботом	dykih	56
GA201, CDR H2 за Кеботом	yfnpnsgystyaqkfqg	57
GA201, CDR H3 за Кеботом	lspggyyvmda	58
GA201, CDR L1 за Кеботом	rasqginnyln	59
GA201, CDR L2 за Кеботом	ntnnlqt	60
GA201, CDR L3 за Кеботом	lqhnsfpt	61

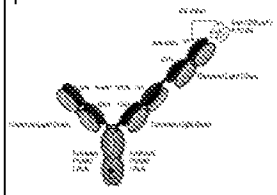
Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Загальний легкий ланцюг LC pETR13197	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACC ACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCC TTCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACC CCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTG ACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGC GCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAG CTGACAGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTG TTCCCCCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTG GTCTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCC TGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCAC CACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTA CCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAG CTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGG CCCCCACCGAGTGCAGCTGA	62

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv15-сайт матриптази MK062 CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR15422 	CAGATCCAGCTGGTGCAGAGCGGCCCTGAGCTGAAGAAACCCGGC GAGACAGTGCGGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACC GACTACAGCATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCTGGCAAGTGCCTG AAGTGGATGGGCTGGATCAACACCGAGACAGGCGAGCCCGCCTAC GCCGACGATTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGC GCCAGCACCGCCTACCTGCAGATCAACAACCTGAAGAACGAGGAC ACCGCCACCTTTTTCTGCGCCCACCCCTACGACTACGACGTGCTG GATTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTGTCTAGCGGAGGC GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGGGGATCTGGGG GAGGCGGATCTGATACCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCAGCCTGG GAGTGTCCCTGGGACAGAGAGCCACCATCAGCTGTCGGGCCAGCA AGAGCGTGTCCACCAGCAACTACAGCTATATCCACTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTGCTGATCAAATACGTGTCCTA CCTGGAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGG CACCGACTTCACCCTGAACATCCACCCCGTGGAAGAGGAAGATGC CGCCACCTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGTTCCCTTGGACCTTC GGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCGG AGGCGGCGGAAGTAGACAGGCCAGAGTCGTGAACGGGGGAGGGG GGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGAGGT GCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCT ACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAAT GGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTA CGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACA GCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGA CCGTGTCAAGCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGG CCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGC TGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGG AACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTG CCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGT GCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTC CCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGC GTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGT GGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTA CGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGC AAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGACAC CGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAGTACC AAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACA TCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC TCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACA CAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGT CGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATG CCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	63

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
FolR1 16D5 VH CH1 Fc "западина" P329G LALA HRYF, pETR15214	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGC GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCG AGTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGG ATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGA TAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAG ACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTA CGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAG CACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCC TGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACA CCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTC CCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCG GCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA ACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT TCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA CCGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	64

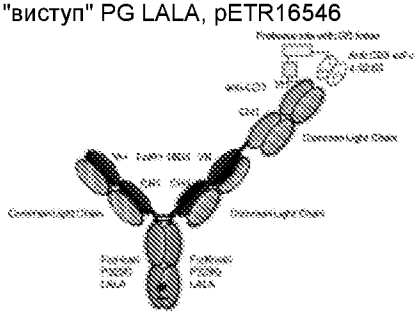
Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MK062 CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR15599 	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTAGACAGGCCAGAGTCGTGAACGGGGGAGGG GGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGCGGAGGATCCGAGG TGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGA TCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACC TACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGAC AGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAAC AGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTG ACCGTGTCAAGCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTG GCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGG CTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGT GCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGT GCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAA GAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGGGGCGGAGGATCCGAG GTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGT TCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGGTTCACCTTCTCCAAC GCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGA TTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGAT AGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAG ACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTA CGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAG TACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAG CACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGG AACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCA AAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	65

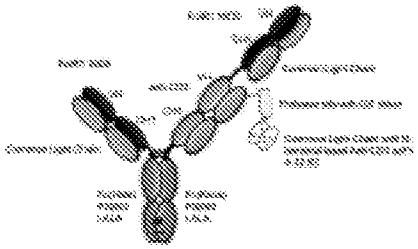
Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR15603 	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGG GGGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGAG GTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGG ATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGA ATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAA CAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGT GACCGTGTCAAGCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCT GGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGG GCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTT GGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCC GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACC GTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGCTCCGA GGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGG TTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAAC GCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGA TTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGAT AGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAG ACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTA CGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAG TACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAG CACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGC AGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGC TCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTC CAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAA AACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGG ACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAG CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGG CTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA	66

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv15 нерозщеплюваний лінкер CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR14759 	CAGATCCAGCTGGTGCAGAGCGGCCCTGAGCTGAAGAAACCCGGC GAGACAGTGCGGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACC GACTACAGCATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCTGGCAAGTGCCTG AAGTGGATGGGCTGGATCAACACCGAGACAGGCGAGCCCGCCTAC GCCGACGATTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGC GCCAGCACCGCCTACCTGCAGATCAACAACCTGAAGAACGAGGAC ACCGCCACCTTTTTCTGCGCCCACCCCTACGACTACGACGTGCTG GATTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTGTCTAGCGGAGGC GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGGGGATCTGGGG GAGGCGGATCTGATACCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCAGCCTGG GAGTGTCCCTGGGACAGAGAGCCACCATCAGCTGTCGGGCCAGCA AGAGCGTGTCCACCAGCAACTACAGCTATATCCACTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTGCTGATCAAATACGTGTCCTA CCTGGAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGG CACCGACTTCACCCTGAACATCCACCCCGTGGAAGAGGAAGATGC CGCCACCTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGTTCCCTTGGACCTTC GGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCGG AGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGGG GGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGAGG TGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGA TCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACC TACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACT ACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGAC AGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAAC AGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTG ACCGTGTCAAGCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTG GCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGG CTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGT GCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGT GCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAA GAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGCTCCGAGG TGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTC CCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCCAACGC GTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGT GGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTA CGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGC AAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGACAC CGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAGTACC AAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACA TCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC TCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACA CAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGT CGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATG CCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	67

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Лінкер, який містить сайт протеази MK062	GGCGGGGGAGGCTCCGGAGGCGGCGGAAGTAGACAGGCCAGAG TCGTGAACGGGGGAGGGGGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGG GGGCGGAGGATCC	68
Анти-HER1 (GA201, важкий ланцюг, pUC-Exp-GA201-HC)	caggtgcagctggtccagagcggcgccgaggtgaagaaacccgg gtcctctgtcaaggtgtcatgcaaggctagcggattcacctttaca gactacaaaatccactgggttaggcaggcacctggccaaggactc gaatggatggggtatttcaacccaaattccggctactctacctatg cccagaagtttcagggaagagtgactattacagctgataagagtac cagcactgcatacatggagctgtcctctcttcgctcagaggacacc gccgtctactattgtgctcggctgagccccggtggctactatgtg atggatgcatgggggcagggaacaaccgtaacagtgtcctctgcg tcgactaagggcccttcagtttttccactcgcccccagtagcaagt ccacatctgggggtaccgctgccctgggctgccttgtgaaagact atttccctgaaccagtcactgtgtcatggaatagcggagccctgac ctccggtgtacacacattccccgctgtgttgcagtctagtggcctg tacagcctctcctctgttgtgaccgtcccttcaagctccctgggga cacagacctatatctgtaacgtgaatcataagccatctaacactaaa gtagataaaaaagtggagcccaagagttgcgacaaaacacacacct gtccccttgcccagcccccgagcttctgggaggccctagcgtct ttctcttcccacccaagcctaaggatactctgatgatatccaggac cccagaagttacatgcgtggtcgtggacgtctcacacgaggaccc cgaagtgaaatttaactggtacgttgatggtgtggaagtccataat gccaagaccaagcctagagaggagcaatacaacagtacatatcgc gtggtaagcgtgttgaccgttctccaccaggactggctcaatggg aaagaatacaagtgtaaagtgtccaacaaagctctgccagcaccca tcgagaagactatttctaaggccaaaggccagccccgggagcctc aggtctatacacttccaccctcaagggatgaactgaccaagaacca agtgagcttgacttgcctggtaaaggggttctacccttccgacatc gctgtggagtgggagtctaatggacaaccagaaaacaattacaaaa ccacacccctgtcctcgacagtgatggcagctttttcctgtatag caaacttaccgttgacaagtccagatggcagcagggaaacgtgttc tcatgtagcgtcatgcacgaagctttgcataaccactacacacaga aaagcctcagcctgagtccagggaag	69
Анти-HER1 (GA201, легкий ланцюг, pUC-Exp-GA201-LC)	gacatccaaatgacccagtcacctagtagcctctccgcctctgttg gcgacagggtgacaattacatgcagagcttcacagggtatcaacaa ttacctgaactggtatcagcagaaaccagggaaggcccccaagcg cttgatatataacaccaataacctgcaaactggcgtccctagccgg ttctccggatctggtagtggcaccgaatttacactcaccatcagct ccctgcagccagaggatttcgccacatactattgtcttcagcataa ttctttccccacctttgggcaaggaactaaactggagattaagcgt actgtcgccgctccctctgtgttcatttttcctccaagtgatgagc agctcaaaagcggtaccgcatccgttgtgtgcctgcttaacaactt ctatccccgggaagccaaggtccaatggaaggtggacaatgctct gcagtcaggaaacagtcaggagagcgtaaccgagcaggattccaa agactctacttactcattgagctccaccctgacactctctaaggca gactatgaaaagcataaagtgtacgcctgtgaggttacccaccagg gcctgagtagccctgtgacaaagtccttcaataggggagagtgc	70

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
HER1 (анти-GA201 VH-VL scFv розщеплюваний MMP лінкер G4S GA201, легкий ланцюг, pUC-I_GA201_MMP_LC)	gaggttcagctggagcagtcaggacctgtgctggtgaagcctggg acttcagtgaagatgtcctgtaaggcttctggatacacattcactg actactatataaactggataatacagagccatggaaagtgtcttgag tggattggagttattaatcctgacagcggtggtactgactacaacc agaacttcaagggcaaggccacattgactgttgacaagtcctccac cacagcctacatggaactcactagcctgacatctgaggactctgca gtctattattgtgcaagaagggattcttacggctttgactactggg gccaaggcaccactctcacagtctcctcaggcggaggtggctcag ggggaggcggtagcggcggaggtggctcaggggggaggcggtag cgacattgtgctgacccagactcccaaattcctgcttgtgccagca ggagacaggattaccatgacctgcaaggccagtctgagtgtgact aatgatgtagcttggtatcaacagaaaccagggcagtctcctaaac tgctgttatactatgcatccaatcgcaacgctggagtccctgatcg cttcactggcagtggatatgggacggatttcactttcaccatcacc actttgcaggctgaagacctggcagtttatttctgtcagcaggatt atacctctcctccgacgttcggttgtggcaccaagctagaaatccg tggtggcggcggttctggcggaggggttctggccccctggggc tatggagccagggtggcggcggttctggcggaggggttctggc ggtggtggctctggcggtgacatccaaatgacccagtcacctagt agcctctccgcctctgttggcgacagggtgacaattacatgcaga gcttcacagggtatcaacaattacctgaactggtatcagcagaaac cagggaaggcccccaagcgcttgatatataacaccaataacctgca aactggcgtccctagccggttctccggatctggtagtggcaccga atttacactcaccatcagctccctgcagccagaggatttcgccaca tactattgtcttcagcataattctttccccaccctttgggcaaggaac taaactggagattaagcgtactgtcgccgctccctctgtgttcatt tttcctccaagtgatgagcagctcaaaagcggtaccgcatccgttg tgtgcctgcttaacaacttctatccccgggaagccaaggtccaatg gaaggtggacaatgctctgcagtcaggaaacagtcaggagagcgt aaccgagcaggattccaaagactctacttactcattgagctccacc ctgacactctctaaggcagactatgaaaagcataaagtgtacgcct gtgaggttacccaccagggcctgagtagccctgtgacaaagtcct tcaataggggagagtgc	71

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16546 	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGSEVQ LLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGK GLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	72

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
FolR1 16D5 HC CH2527-VH3_23-12 HC Fc "виступ" PG LALA, pCON999 	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQA PGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVS RIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	73
анти-ID CD3 scFv 4.32.63 сайт протеази MK062 CD3 VL CLлямбда, pETR16544	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSRQARVVNGGGGGSGGGGSGGGGSQA VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPG QAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS	74
анти-ID CD3 scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер CD3 VL CLлямбда, pETR16545	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGGSGGGGSGGGGSQ AVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	75
aMSLN RG7787 VH CH1 EE CD3 CH2527-VH3_23-12 VL CH1 Fc "виступ" PG LALA, pETR15445	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMNWVRQA PGQGLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGKATMTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSL TVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCAL WYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	76

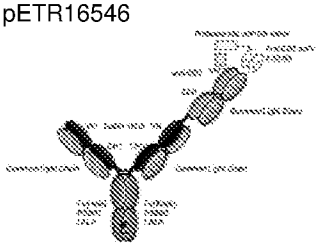
Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
aMSLN RG7787 VH CH1EE Fc "западина" P329G LALA, pETR15444	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMNWVRQA PGQGLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGKATMTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	77
aMSLN RG7787 VL Ck RK, pETR15443	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKSGK APKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQWSKHPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	78
анти-ID CH2527 4.32.63 CD3 CH2527 VH 23-12 Ck, сайт MMP9-MK062, pETR16758	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGSEVQ LLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGK GLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	79
анти-ID CH2527 4.32.63 CD3 CH2527 VH 23-12 Ck, нерозщеплюваний лінкер, pETR16759	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPG KGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	80
CD3 CH2527 VH 23-12 - Ck, pETR13811	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVT VSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	81

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 aMSLN VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16751	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGSQAV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPG QAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYSFTGYTMNWVRQAPGQGLEWMGLITPYNGASSYNQ KFRGKATMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDG RGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	82
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер aMSLN VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16752	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGGSGGGGSGGGGSQ AVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYSFTGYTMNWVRQAPGQGLEWMGLITPYNGASSYN QKFRGKATMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYD GRGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	83

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
CH2527 XFab aMSLN RG7787 HC EE Fc "виступ" PG LALA, pETR16764	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSFTGYTMNWVRQAPGQGLEWMGLITPYNGASSY NQKFRGKATMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGY DGRGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	84
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт катепсину S/B CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16550	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSFVGGTGGGGSGGGGSGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPG KGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	85
Об'єднаний сайт MMP9 MK062, 33 ак для CD3	GGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGS	86
Об'єднаний сайт MMP9 MK062, 35 ак для HER1	GGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGSGG	87
Сайт катепсину S/B	GGGGSGGGGSGGGGSFVGGTGGGGSGGGGSGGS	88
KKAAPVNG	GGGGSGGGGSKKAAPVNGGGGGSGGGGSGGGGS	89
PMAKKVNG	GGGGSGGGGSPMAKKVNGGGGGSGGGGSGGGGS	90
QARAKVNG	GGGGSGGGGSQARAKVNGGGGGSGGGGSGGGGS	91
MMP9	GGGGSGGGGSVHMPLGFLGPGGGGSGGGGSGGS	92
QARAK	GGGGSGGGGSQARAKGGGGSGGGGSGGGGSGGS	93
MMP9-PMAKK	GGGGSVHMPLGFLGPPMAKKGGGGSGGGGSGGS	94
KKAAP	GGGGSGGGGSKKAAPGGGGSGGGGSGGGGSGGS	95
PMAKK	GGGGSGGGGSPMAKKGGGGSGGGGSGGGGSGGS	96
Сайт, який розпізнається протеазою 6	VHMPLGFLGPRQARVVNG	97

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Сайт, який розпізнається протеазою 7	FVGGTG	98
Сайт, який розпізнається протеазою 8	KKAAPVNG	99
Сайт, який розпізнається протеазою 9	PMAKKVNG	100
Сайт, який розпізнається протеазою 10	QARAKVNG	101
Сайт, який розпізнається протеазою 11	VHMPLGFLGP	102
Сайт, який розпізнається протеазою 12	QARAK	103
Сайт, який розпізнається протеазою 13	VHMPLGFLGPPMAKK	104
Сайт, який розпізнається протеазою 14	KKAAP	105
Сайт, який розпізнається протеазою 15	PMAKK	106
aMSLN, CDR H1 за Кеботом	GYTMN	107
aMSLN, CDR H2 за Кеботом	LITPYNGASSYNQKFRG	108
aMSLN, CDR H3 за Кеботом	GGYDGRGFDY	109
aMSLN, CDR L1 за Кеботом	SASSSVSYMH	110
aMSLN, CDR L2 за Кеботом	DTSKLAS	111
aMSLN, CDR L3 за Кеботом	QQWSKHPLT	112
aMSLN, VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMNWVRQA PGQGLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGKATMTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGTLVTVSS	113
aMSLN, VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKSGK APKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQWSKHPLTFGQGTKLEIK	114
aHER1, VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTDYKIHWVRQAP GQGLEWMGYFNPNSGYSTYAQKFQGRVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARLSPGGYYVMDAWGQGTTVTVSS	115
aHER1, VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGINNYLNWYQQKPG KAPKRLIYNTNNLQTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDF ATYYCLQHNSFPTFGQGTKLEIK	116

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Загальний легкий ланцюг LC pETR13197	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC CACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCAC CAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTT CAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCC CTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGA CACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCG CCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGC TGACAGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGT TCCCCCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTG GTCTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCC TGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCAC CACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTA CCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAG CTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGG CCCCCACCGAGTGCAGCTGA	117

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16546 	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGAGGCGGCGGAAGTG TGCACATGCCCCTGGGCTTCCTGGGCCCCAGACAGGCCAGAGTCG TGAACGGGGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGAGGT GCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCT ACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAAT GGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTA CGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACA GCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGA CCGTGTCAAGCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGG CCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGC TGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGG AACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTG CCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGGGGCGGAGGATCCGAGGT GCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTC CCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGGTTCACCTTCTCCAACGC GTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGT GGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGATTA CGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGC AAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAGACAC CGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAGTACC AAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACA TCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC TCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACA CAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGT CGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATG CCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	118

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
FolR1 16D5 HC CH2527-VH3_23-12 HC Fc "виступ" PG LALA, pCON999	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGC GGTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTCACCTTCTCC AACGCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCT CGAGTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCAC GGATTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGAC GATAGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGA AGACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGG TACGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCT AGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAG AGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGA CTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCT GACAAGCGGCGTGCACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG CCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAA CACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGG AGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAT CTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT GTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGG TGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCA GAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGA AGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT ATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTT TGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAG TACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAG CACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGG AACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCA AAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	119

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
анти-ID CD3 scFv 4.32.63 сайт протеази MK062 CD3 VL CLлямбда, pETR16544	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTAGACAGGCCAGAGTCGTGAACGGGGGAGGG GGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGCGGAGGATCCCAGG CCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCA CCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCA GCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCA GAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCT GCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACA CTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTG ACAGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTC CCCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGT CTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTG GAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCA CCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACC TGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCT GCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGGCC CCCACCGAGTGCAGCTGA	120

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
анти-ID CD3 scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер CD3 VL CLлямбда, pETR16545	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGG GGGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAG GCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACC AGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCT GCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACA CTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTG ACAGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTC CCCCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGT CTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTG GAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCA CCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACC TGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCT GCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGGCC CCCACCGAGTGCAGCTGA	121

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
aMSLN RG7787 VH CH1 EECD3 CH2527-VH3_23-12 VL CH1 Fc "виступ" PG LALA, pETR15445	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGC GCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACC GGCTACACCATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTG GAATGGATGGGCCTGATCACCCCCTACAACGGCGCCAGCAGCTAC AACCAGAAGTTCCGGGGCAAGGCCACCATGACCGTGGACACCAGC ACCTCCACCGTGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCGGCTACGACGGCAGAGGC TTCGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCTGCTA GCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCTTCCAGCAAGT CCACCTCTGGCGGAACTGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTGGAAGATT ACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAATTCTGGCGCTCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCC TGTACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACC AAGGTGGACGAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACGGTGGCGG AGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCCAGGCTGTCGTGACCCAGGAAC CCTCCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACCGTGACCCTGACCTGTG GATCTTCTACCGGCGCTGTGACCACCTCCAACTACGCCAATTGGGT GCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATCGGCGGCA CCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCTCCGGTTCTC TGCTGGGCGGCAAGGCTGCCCTGACTCTGTCTGGTGCTCAGCCTG AGGACGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACTCCAACCTGT GGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACCGTGCTGTCCAGCGCTT CCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCTCCAAGT CTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGGATGTCTCGTGAAGGACT ACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGA CCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTGCCTTCCTCTAGCCTGG GAACACAGACATATATCTGTAATGTGAATCATAAGCCCAGTAATACC AAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGAGCTGCGATAAGACCCACA CCTGTCCCCCCTGCCCTGCTCCTGAAGCTGCTGGTGGCCCTAGCG TGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCG GACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGA CCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACTCCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGGGCGC TCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGA ACCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAG CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	122

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
aMSLN RG7787 VH CH1EE Fc "западина" P329G LALA, pETR15444	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGC GCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACC GGCTACACCATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTG GAATGGATGGGCCTGATCACCCCCTACAACGGCGCCAGCAGCTAC AACCAGAAGTTCCGGGGCAAGGCCACCATGACCGTGGACACCAGC ACCTCCACCGTGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCGGCTACGACGGCAGAGGC TTCGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCTGCTA GCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGA GCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTG ACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGC CTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACC GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC GGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	123
aMSLN RG7787 VL Ck RK, pETR15443	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTG GGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCC TACATGCACTGGTATCAGCAGAAGTCCGGCAAGGCCCCCAAGCTG CTGATCTACGACACCAGCAAGCTGGCCTCCGGCGTGCCCAGCAGA TTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCT CCCTCCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGGT CCAAGCACCCCCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCA AGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGA TCGGAAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCA AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAG	124

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
анти-ID CH2527 4.32.63 CD3 CH2527 VH 23-12 Ck, сайт MMP9-MK062, pETR16758	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGAGGCGGCGGAAGTG TGCACATGCCCCTGGGCTTCCTGGGCCCCAGACAGGCCAGAGTCG TGAACGGGGGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGAGGT GCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCT ACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGAAT GGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTACTA CGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACA GCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGA CCGTGTCAAGCGCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCC CACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGTCGTGT GCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACAGCCAGGAATCCGTGA CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCC TGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCT GCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTT TCAACCGGGGCGAGTGCTGA	125

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
анти-ID CH2527 4.32.63 CD3 CH2527 VH 23-12 Ck, нерозщеплюваний лінкер, pETR16759	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGG GGGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGAG GTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGG ATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGA ATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAA CAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGT GACCGTGTCAAGCGCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTT CCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGTCGT GTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTG GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACAGCCAGGAATCCGT GACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCAC CCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGC CTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTC TTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA	126
CD3 CH2527 VH 23-12 - Ck, pETR13811	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGG CGGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCC ACCTACGCCATGAACTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGCCTG GAATGGGTGTCCCGGATCAGATCCAAGTACAACAACTACGCCACCT ACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCTCGGGACG ACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCG AGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCA ACTCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGT GACCGTGTCATCTGCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTC CCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGTCGTG TGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGG AAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACAGCCAGGAATCCGTG ACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACC CTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCC TGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCT TTCAACCGGGGCGAGTGCTGA	127

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 aMSLN VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16751	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGAGGCGGCGGAAGTG TGCACATGCCCCTGGGCTTCCTGGGCCCCAGACAGGCCAGAGTCG TGAACGGGGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAGGC CGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCAC CGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAG CAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAG AGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGC CAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACT GTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCT GTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGAC AGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCT GGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGG ATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGG AACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTG CCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTGAATCA TAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGAGC TGCGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGGTCCCAGGTGCA GCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCG TGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCGGCTACA CCATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAATGGA TGGGCCTGATCACCCCCTACAACGGCGCCAGCAGCTACAACCAGA AGTTCCGGGGCAAGGCCACCATGACCGTGGACACCAGCACCTCCA CCGTGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCG TGTACTATTGTGCCAGAGGCGGCTACGACGGCAGAGGCTTCGATT ATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCTGCTAGCACCA AGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCA GCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCC GGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTAT AGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACA TGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTC TTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATA ATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	128

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер aMSLN VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16752	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGG GGGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAG GCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACC AGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCT GCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACA CTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTG ACAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCC CTGGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTG GGATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTT GGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCG TGCCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTGAAT CATAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGA GCTGCGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGGTCCCAGGT GCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCA GCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCGGCT ACACCATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAAT GGATGGGCCTGATCACCCCCTACAACGGCGCCAGCAGCTACAACC AGAAGTTCCGGGGCAAGGCCACCATGACCGTGGACACCAGCACCT CCACCGTGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCG CCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCGGCTACGACGGCAGAGGCTTCG ATTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCTGCTAGCA CCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCA CCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACC TCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTG TATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG TACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGC GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	129

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
CH2527 XFab aMSLN RG7787 HC EE Fc "виступ" PG LALA, pETR16764	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACC ACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCC TTCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACC CCTGCCAGATTCTCCGGTTCTCTGCTGGGCGGCAAGGCTGCCCTG ACTCTGTCTGGTGCTCAGCCTGAGGACGAGGCCGAGTACTACTGC GCCCTGTGGTACTCCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAG CTGACCGTGCTGTCCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTC CCCCTGGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCC CTGGGATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGT CTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTG CAGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGA CCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGT GAATCATAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCT AAGAGCTGCGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGGTCCCA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCG CCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCG GCTACACCATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGG AATGGATGGGCCTGATCACCCCCTACAACGGCGCCAGCAGCTACA ACCAGAAGTTCCGGGGCAAGGCCACCATGACCGTGGACACCAGCA CCTCCACCGTGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACA CCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCGGCTACGACGGCAGAGGCT TCGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCTGCTA GCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGA GCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTG ACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGC CTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACC GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC GGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	130

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт катепсину S/B CH2527 VH3_23-VH12 CH1 FolR1 16D5 VH CH1 hum Fc "виступ" PG LALA, pETR16550	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTTTCGTGGGGGGGAC CGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCGGGGGATCCGAG GTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGG ATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCCTGGA ATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACTACGCCACCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAA CAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTCGT GACCGTGTCAAGCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCT GGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGG GCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTT GGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTCCCTGCC GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACC GTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCC AAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGGGGCGGAGGATCCGA GGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGG TTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGGTTCACCTTCTCCAAC GCGTGGATGAGCTGGGTTCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGA TTACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGAT AGCAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACTGAAG ACACCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTA CGATTATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAG TACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAG CACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAAGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGG AACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCA AAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	131

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
pETR16859, варіант із дозрілою афінністю Omnitarg Fab cv-Fc "западина" PG LALA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNDYTMDWVRQA KGLEWVADVNPNSGGSIVNRRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARNLGPFFYFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL GAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	132
pETR16860 загальна CLkRK Herceptarg	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPG KAPKLLIYSASFRYTGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC	133
pETR17605 CD3 X Fab Herceptin HC, заряджені варіанти Fc "виступ" PG LALA	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGE GFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	134
pETR17606 анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 нерозщеплюваний лінкер aHerceptin VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGGSGGGGSGGGGSQ AVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYAD SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEG FYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	135

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
pETR17607 анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 aHerceptin VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGSQAV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPG QAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGF YAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	136
FolR1 36F2 VH CH1 EE Fc "западина" PG LALA pETR14797	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTHDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARSFFTGFHLDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	137
FolR1 36F2 VL Ck RK, pETR14798	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYTNEHYYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDRK LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	138

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 aFolR1 36F2 VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA pETR17621	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSVHMPLGFLGPRQARVVNGGGGGSGGGGSQAV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPG QAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPED EAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQ KFQGRVTMTHDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSFFTG FHLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	139
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер aFolR1 36F2 VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA pETR17622	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKCLEWLGIIWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNS LQTDDTATYYCAKGITTVVDDYYAMDYWGQGTSVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAATFLADDVPSRFS GSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCQHYYSTPYTFGCGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGGSGGGGSGGGGSQ AVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKP GQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTHDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSFFT GFHLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	140

Конструкція	Амінокислотна послідовність	SEQ ID No
FolR1 36F2 класичний формат: CH2527 XFab 36F2 HC EE Fc "виступ" PG LALA pETR17623	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQP EDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTHDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSFF TGFHLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	141
Herceptin/Omnitarg, CDR H1 за Кеботом	DYTMD	142
Herceptin/Omnitarg, CDR H2 за Кеботом	DVNPNSGGSIVNRRFKG	143
Herceptin/Omnitarg, CDR H3 за Кеботом	NLGPFFYFDY	144
Perjeta, CDR H1 за Кеботом	TSNYANW	145
Perjeta, CDR H2 за Кеботом	GTNKRAPGTPARFSGSLLGG	146
Perjeta, CDR H3 за Кеботом	TKLTV	147
CLC CDR L1 за Кеботом	KASQDVSTAVA	148
CLC CDR L2 за Кеботом	SASFRYT	149
CLC CDR L3 за Кеботом	QQHYTTPPT	150
36F2, CDR H1 за Кеботом	SYYMH	151
36F2, CDR H2 за Кеботом	IINPSGGSTSYAQKFQG	152
36F2, CDR H3 за Кеботом	SFFTGFHLDY	153
36F2, CDR L1 за Кеботом	RASQSVSSSYLA	154
36F2, CDR L2 за Кеботом	GASSRAT	155
36F2, CDR L3 за Кеботом	QQYTNEHYYT	156
анти-FolR1 36F2, варіабельна ділянка VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTHDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARSFFTGFHLDYWGQGTLVTVSS	157
анти-FolR1 36F2, варіабельна ділянка VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYTNEHYYTFGQGTKVEIK	158
Herceptarg, варіабельна ділянка VH1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNDYTMDWVRQA PGKGLEWVADVNPNSGGSIVNRRFKGRFTLSVDRSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARNLGPFFYFDYWGQGTLVTVSS	159
Herceptarg, варіабельна ділянка VH2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAP GKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGFYAMDYWGQGTLVTVSS	160
Herceptarg, загальна варіабельна ділянка VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPG KAPKLLIYSASFRYTGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK	161

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
pETR16859 Omnitarg, варіант із дозрілою афінністю Fab cv-Fc "западина" PG LALA	GAAGTTCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGTGGTCTGGTTCAGCCTGGT GGTAGCCTGCGTCTGAGCTGTGCAGCAAGCGGTTTTACCTTTAACG ATTATACCATGGATTGGGTTCGTCAGGCACCGGGTAAAGGTCTGGA ATGGGTTGCAGATGTTAATCCGAATAGCGGTGGTAGCATTGTTAAC CGTCGTTTTAAAGGTCGTTTTACCCTGAGCGTTGATCGTAGCAAAA ATACCCTGTATCTGCAAATGAATAGTCTGCGTGCAGAGGATACCGC AGTGTATTATTGTGCACGTAACCTGGGTCCGTTCTTCTACTTTGATT ATTGGGGTCAGGGCACCCTGGTTACCGTTAGCAGCGCTAGCACCA AGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCA GCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCC GGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTAT AGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACA TGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTC TTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATA ATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC CACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	162
pETR16860 Herceptarg, загальна CLkRK	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTG GGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCAGGACGTGTCC ACAGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCCAAG CTGCTGATCTACAGCGCCAGCTTCCGGTACACCGGCGTGCCCAGC AGATTCAGCGGCAGCAGATCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATC AGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG CACTACACCACCCCCCCCACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAA ATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCAT CTGATCGGAAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCT GAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTG AGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA CCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGTTAG	163

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
pETR17606 анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер aHerceptin VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCG GAGGCGGCGGAAGTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGG GGGGGGAAGTGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAG GCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACC AGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCT GCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACA CTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTG ACAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCC CTGGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTG GGATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTT GGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCG TGCCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTGAAT CATAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGA GCTGCGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGGTCCGAGGT CCAGCTGGTCGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAGCGGATTCAACATCAAGGACA CCTACATCCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGAAAGGGACTGGAGT GGGTGGCCAGAATCTACCCCACCAACGGCTACACAAGATACGCCG ACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCGCCGACACCAGCAAGA ACACCGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACAG CCGTGTACTACTGCTCTAGATGGGGAGGCGAGGGCTTCTACGCCA TGGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTGACCGTGTCCAGCGCTA GCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGA GCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTG ACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGC CTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACC GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC GGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	164

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
pETR17607 анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 aHerceptin VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGAGGCGGCGGAAGTG TGCACATGCCCCTGGGCTTCCTGGGCCCCAGACAGGCCAGAGTCG TGAACGGGGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAGGC CGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCAC CGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAG CAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAG AGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGC CAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACT GTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCT GTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGAC AGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCT GGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGG ATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGG AACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTG CCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTGAATCA TAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGAGC TGCGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGGTCCGAGGTCCA GCTGGTCGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGCGGATCTCT GAGACTGAGCTGCGCCGCCAGCGGATTCAACATCAAGGACACCTA CATCCACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGAAAGGGACTGGAGTGGG TGGCCAGAATCTACCCCACCAACGGCTACACAAGATACGCCGACA GCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCGCCGACACCAGCAAGAACA CCGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACAGCCG TGTACTACTGCTCTAGATGGGGAGGCGAGGGCTTCTACGCCATGG ACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTGACCGTGTCCAGCGCTAGCA CCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCA CCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACC TCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTG TATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG TACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGC GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	165

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
FolR1 36F2, VH CH1 EE Fc "западина" PG LALA pETR14797	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTC CTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGA ATGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGC GCAGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCAC CTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACT GCAGTGTACTACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCAC CAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCAC CAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTACTT CCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTC CGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTA TAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	166
FolR1 36F2 VL Ck RK, pETR14798	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCA GCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAG ACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCAT CAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAG TATACCAACGAACATTATTATACGTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGG AAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC ATCTGATCGGAAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTG CTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGG ATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG GGGAGAGTGTTAG	167

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63 сайт матриптази MMP9 MK062 aFolR1 36F2 VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA pETR17621	CAAGTGCAGCTGAAAGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGC CAGAGCCTGAGCATCACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACC AGCTACGGCGTGTCATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTG GAATGGCTGGGCATCATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCAC AGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAG AGCCAGGTGTTCCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC GCCACCTACTACTGCGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGAC TACTACGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTG TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGG GGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCC CTGCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACAT GCCGGGCCAGCGAGAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCAGGGCAAGAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCT TTCTGGCCGACGATGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCG GCACACAGTACAGCCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACG TGGCCCGGTACTACTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTT CGGCTGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGAGGCGGCGGAAGTG TGCACATGCCCCTGGGCTTCCTGGGCCCCAGACAGGCCAGAGTCG TGAACGGGGGGGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAGGC CGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCAC CGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAG CAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAG AGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGC CAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACT GTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCT GTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGAC AGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCT GGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGG ATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGG AACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTG CCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTGAATCA TAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGAGC TGCGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGGTCCCAGGTGCA ATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCCGTT AAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACAT GCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGG GCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATT CCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTCTACCGT TTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTAC TACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACTATTGGG GTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCC CCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGC GGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCT GAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAC GCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	168

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
Анти-CD3 (CH2527 VH_3-23(12) VL7-46(13)) scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер aFolR1 36F2 VH CH1 EE CH2527-VL7_46-13 CH1 hum Fc "виступ" PG LALA pETR17622	AGAGTCCGGCCCTGGACTGGTGGCCCCTAGCCAGAGCCTGAGCAT CACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGCCTGACCAGCTACGGCGTGTC ATGGGTGCGCCAGCCTCCAGGCAAGTGTCTGGAATGGCTGGGCAT CATCTGGGGCGACGGCAGCACCAATTACCACAGCGCCCTGATCAG CAGACTGAGCATCTCCAAGGACAACAGCAAGAGCCAGGTGTTCCT GAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCACCTACTACTG CGCCAAGGGCATCACCACCGTGGTGGACGACTACTACGCTATGGA CTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGCG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGGGGATCTGGGGG AGGCGGAAGCGATATCCAGATGACCCAGAGCCCTGCCAGCCTGTC TGCCTCTGTGGGCGAGACAGTGACCATCACATGCCGGGCCAGCGA GAACATCGACAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCAGGGCAA GAGCCCCCAGCTGCTGGTGTACGCCGCCACCTTTCTGGCCGACGA TGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAGCGGAAGCGGCACACAGTACAG CCTGAAGATCAACTCCCTGCAGAGCGAGGACGTGGCCCGGTACTA CTGCCAGCACTACTACAGCACCCCCTACACCTTCGGCTGCGGCAC CAAGCTGGAAATCAAAGGCGGGGGAGGCTCCGGAGGCGGCGGAA GTGGAGGCGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGAGGGGGGGGAAGTGG GGGCGGAGGCAGTGGGGGGGGAGGATCCCAGGCCGTCGTGACC CAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACCGTGACCCTG ACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGCC AACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGACTGATC GGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGC GGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGCC CAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGC AACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTGCTGAGC AGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGC TCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGGATGTCTCGTG AAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAG CCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAGTGCTGCAGAGCA GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTGCCTTCCTCTA GCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTGAATCATAAGCCCAG TAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCTAAGAGCTGCGATGGC GGAGGAGGGTCTGGAGGCGGAGGGTCCCAGGTGCAATTGGTTCA ATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTTCCGTTAAAGTGAGC TGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTACATGCACTGGG TTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGCATCATTA ACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGGGTC GCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCA CGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACTATTGGGGTCAAGGCA CCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCTCCGTGTT CCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCG CTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCG TGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGG TCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGA GCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCAT CTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTG GTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	169

Конструкція	Послідовність ДНК	SEQ ID No
FolR1 36F2 класичний формат: CH2527 XFab 36F2 HC EE Fc "виступ" PG LALA pETR17623	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACC ACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCC TTCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACC CCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTG ACACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGC GCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAG CTGACAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTC CCCCTGGCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCC CTGGGATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGT CTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTG CAGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCGTGA CCGTGCCTTCCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGT GAATCATAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACCT AAGAGCTGCGATGGCGGAGGAGGGTCTGGAGGCGGAGGGTCCCA GGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCT TCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCT ATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGC AGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTC TACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCA GTGTACTACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACTA TTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAG GGCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGC GGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCGAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGG CGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAG CCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACTCACACATG CCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	170

Хоча представлений вище винахід детально описаний для цілей кращого розуміння за допомогою илюстрацій і прикладів, опис і приклади його слід розглядати як такі, що обмежують обсяг винаходу. Зміст всіх процитованих патентів і наукової літератури повністю включені в даний опис як посилання.

Перелік послідовностей

<110> Ф.Хоффманн-Ля Рош АГ

<120> Активовані протеазою біспецифічні молекули, які зв'язують Т-клітини

<130> P33331

<160> 170

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 215
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 1

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

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

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

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

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

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

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 2
<211> 971
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 2

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

Thr Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ser Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

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

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Phe Phe Cys
85 90 95

Ala His Pro Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Ala Ser Leu Gly Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ser Tyr Ile His
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr
180 185 190

Val Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp
210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
515 520 525

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
530 535 540

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln
545 550 555 560

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr
565 570 575

Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
595 600 605

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu
610 615 620

Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
625 630 635 640

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
645 650 655

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
660 665 670

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
675 680 685

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
690 695 700

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
705 710 715 720

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
725 730 735

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
740 745 750

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
755 760 765

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
770 775 780

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
785 790 795 800

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
805 810 815

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
820 825 830

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
835 840 845

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
850 855 860

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
865 870 875 880

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
885 890 895

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
900 905 910

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
915 920 925

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
930 935 940

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
945 950 955 960

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
965 970

<210> 3
<211> 450
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 3

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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 His Glu
260 265 270

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
325 330 335

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

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

Ser Cys Ala 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 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

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

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 4
<211> 971
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 4

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
325 330 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
340 345 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn

355 360 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
370 375 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
405 410 415

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
420 425 430

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
435 440 445

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
450 455 460

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
465 470 475 480

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
485 490 495

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
515 520 525

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
530 535 540

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln
545 550 555 560

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr
565 570 575

Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
595 600 605

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu
610 615 620

Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

625 630 635 640

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
645 650 655

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
660 665 670

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
675 680 685

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
690 695 700

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
705 710 715 720

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
725 730 735

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
740 745 750

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
755 760 765

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
770 775 780

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
785 790 795 800

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
805 810 815

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
820 825 830

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
835 840 845

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
850 855 860

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
865 870 875 880

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
885 890 895

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

900 905 910

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
915 920 925

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
930 935 940

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
945 950 955 960

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
965 970

<210> 5
<211> 971
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 5

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
325 330 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
340 345 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
355 360 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
370 375 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
405 410 415

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
420 425 430

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
435 440 445

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
450 455 460

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
465 470 475 480

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
485 490 495

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
515 520 525

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
530 535 540

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln
545 550 555 560

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr
565 570 575

Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
595 600 605

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu
610 615 620

Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
625 630 635 640

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
645 650 655

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
660 665 670

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
675 680 685

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
690 695 700

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
705 710 715 720

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
725 730 735

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
740 745 750

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
755 760 765

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
770 775 780

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
785 790 795 800

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
805 810 815

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
820 825 830

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
835 840 845

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
850 855 860

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
865 870 875 880

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
885 890 895

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
900 905 910

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
915 920 925

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
930 935 940

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
945 950 955 960

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
965 970

<210> 6
<211> 971

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 6

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

Thr Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30

Ser Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Lys Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Asp Asp Phe
    50                  55                  60

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

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Phe Phe Cys
                85                  90                  95

Ala His Pro Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Leu Thr Gln
    130                 135                 140

Ser Pro Ala Ser Leu Gly Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser
145                 150                 155                 160

Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ser Tyr Ile His
                165                 170                 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr
            180                 185                 190

Val Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp
    210                 215                 220

Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg Glu Phe Pro Trp Thr Phe
225                 230                 235                 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255
```

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
325 330 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
340 345 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
355 360 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
370 375 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
405 410 415

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
420 425 430

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
435 440 445

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
450 455 460

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
465 470 475 480

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
485 490 495

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
515 520 525

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
530 535 540

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln
545 550 555 560

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr
565 570 575

Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
595 600 605

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu
610 615 620

Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
625 630 635 640

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
645 650 655

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
660 665 670

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
675 680 685

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
690 695 700

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
705 710 715 720

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
725 730 735

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
740 745 750

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
755 760 765

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
770 775 780

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
785 790 795 800

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
805 810 815

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
820 825 830

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
835 840 845

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
850 855 860

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
865 870 875 880

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
885 890 895

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
900 905 910

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
915 920 925

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
930 935 940

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
945 950 955 960

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
965 970

<210> 7
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Gln Ala Arg Val Val
1 5 10 15

Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 8
<211> 28
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 8

Gly Gly Gly Gly Ser Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Gly
1 5 10 15

Arg Ser Arg Gly Ser Phe Pro Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 9
<211> 41
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Gln Ala Arg Val Val
1 5 10 15

Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 10
<211> 36
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 10

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Gln Ala Arg Val Val
1 5 10 15

Asn Gly Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser
35

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 11

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 12
<211> 19
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 12

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 13
<211> 14
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 13

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 14
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 14

Asn Ala Trp Met Ser
1 5

<210> 15
<211> 19
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 15

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

Val Lys Gly

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 16

Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 17
<211> 14
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 17

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

<210> 18
<211> 7

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 18

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 19

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 20

Asp Tyr Ser Ile His
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 21

Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 22

Pro Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr
1 5

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 23

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10 15

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 24

Tyr Val Ser Tyr Leu Glu Ser
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 25

Gln His Ser Arg Glu Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 26
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 26

Ser Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 27

Ile Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Ile Ser
1 5 10 15

<210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 28

Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 29

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 30
<211> 7

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 30

Ala Ala Thr Phe Leu Ala Asp
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 31

Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 32
<211> 450
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 32

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

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

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

Gly Tyr Phe Asn Pro Asn Ser Gly Tyr Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Ser Pro Gly Gly Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

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

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

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

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

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 His Glu
260 265 270

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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 Arg Asp Glu Leu 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 Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro

435 440 445

Gly Lys
450

<210> 33
<211> 213
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 33

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

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

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

Tyr Asn Thr Asn Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 34
<211> 492
<212> PRT
<213> Химера

<400> 34

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

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

Tyr Ile Asn Trp Ile Ile Gln Ser His Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr
130 135 140

Pro Lys Phe Leu Leu Val Pro Ala Gly Asp Arg Ile Thr Met Thr Cys
145 150 155 160

Lys Ala Ser Leu Ser Val Thr Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
165 170 175

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Asn
180 185 190

Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe
195 200 205

Thr Phe Thr Ile Thr Thr Leu Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe
210 215 220

Cys Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Pro Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys
225 230 235 240

```
Leu Glu Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Pro
                245                 250                 255

Leu Gly Leu Trp Ser Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
        275                 280                 285

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
    290                 295                 300

Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
305                 310                 315                 320

Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Asn Leu Gln Thr Gly
                325                 330                 335

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
            340                 345                 350

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
        355                 360                 365

Gln His Asn Ser Phe Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
    370                 375                 380

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
385                 390                 395                 400

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
                405                 410                 415

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
            420                 425                 430

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
        435                 440                 445

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
    450                 455                 460

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
465                 470                 475                 480

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
                485                 490
```

<210> 35
<211> 35
<212> PRT

<213> Химерна

<400> 35

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Pro Leu Gly Leu Trp
1 5 10 15

Ser Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Gly
35

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 36

Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly
1 5

<210> 37
<211> 18
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 37

Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Gly Arg Ser Arg Gly Ser
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 38
<211> 21
<212> PRT
<213> Химерна

<220>
<221> X
<222> (9)..(13)
<223> X є амінокислотою

<220>
<221> X
<222> (9)..(13)
<223> X або Xaa є амінокислотою

<400> 38

Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Pro Leu
1 5 10 15

Ser Leu Tyr Ser Gly
20

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 39

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

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 40

Pro Leu Gly Leu Trp Ser Gln
1 5

<210> 41
<211> 249
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 41

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

Thr Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ser Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

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

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Phe Phe Cys
85 90 95

Ala His Pro Tyr Asp Tyr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Ala Ser Leu Gly Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ser Tyr Ile His
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr
180 185 190

Val Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp
210 215 220

Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg Glu Phe Pro Trp Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 42
<211> 249
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 42

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

```
Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145                 150                 155                 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
                165                 170                 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
            180                 185                 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225                 230                 235                 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                245
```

<210> 43
<211> 125
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 43

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 44

<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 44

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 45
<211> 19
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 45

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

Val Lys Gly

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 46

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 47
<211> 120
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 47

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 48
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 48

Asp Tyr Tyr Ile Asn
1 5

<210> 49
<211> 17
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 49

Val Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 50
<211> 8
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 50

Arg Asp Ser Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 51

Lys Ala Ser Leu Ser Val Thr Asn Asp Val Ala
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 52

Tyr Ala Ser Asn Arg Asn Ala
1 5

<210> 53
<211> 9

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 53

Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 54
<211> 207
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
20 25 30

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

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

<210> 55
<211> 109
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 55

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

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

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

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

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

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

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

<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 56

Asp Tyr Lys Ile His
1 5

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 57

Tyr Phe Asn Pro Asn Ser Gly Tyr Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 58

Leu Ser Pro Gly Gly Tyr Tyr Val Met Asp Ala
1 5 10

<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 59

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 60

Asn Thr Asn Asn Leu Gln Thr
1 5

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 61

Leu Gln His Asn Ser Phe Pro Thr
1 5

<210> 62
<211> 648
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 62
caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300

ggcggaggca ccaagctgac agtcctaggt caacccaagg ctgccccctcag cgtgaccctg 360

ttccccccca gcagcgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatcagc 420

gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc 480

ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac 540

ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgcca ggtgacccac 600

gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagctga 648

<210> 63
<211> 2916

<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 63
cagatccagc tggtgcagag cggccctgag ctgaagaaac ccggcgagac agtgcggatc 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gactacagca tccactgggt caagcaggcc 120
cctggcaagt gcctgaagtg gatgggctgg atcaacaccg agacaggcga gcccgcctac 180
gccgacgatt tcaagggcag attcgccttc agcctggaaa ccagcgccag caccgcctac 240
ctgcagatca acaacctgaa gaacgaggac accgccacct ttttctgcgc ccaccctac 300
gactacgacg tgctggatta ttggggccag ggcaccagcg tgaccgtgtc tagcggaggc 360
ggaggatctg gcggcggagg aagtggcgga gggggatctg ggggaggcgg atctgatacc 420
gtgctgacac agagccctgc cagcctggga gtgtccctgg gacagagagc caccatcagc 480
tgtcgggcca gcaagagcgt gtccaccagc aactacagct atatccactg gtatcagcag 540
aagcccggcc agccccccaa gctgctgatc aaatacgtgt cctacctgga aagcggcgtg 600
cccgccagat tttctggctc tggcagcggc accgacttca ccctgaacat ccaccccgtg 660
gaagaggaag atgccgccac ctactactgc cagcacagca gagagttccc ttggaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc ggcggaggct ccggaggcgg cggaagtaga 780
caggccagag tcgtgaacgg gggaggggggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggccccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020
gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcaca aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc 1260
agcagcaaga gcacaagcgg cggaacagcc gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttc 1320
cccgagcccg tgacagtgtc ttggaacagc ggagccctga caagcggcgt gcacaccttc 1380
cctgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac tccctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc 1440
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa 1500
gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt gatggcggag gagggtccgg aggcggagga 1560
tccgaggtgc aattggttga atctggtggt ggtctggtaa aaccgggcgg ttccctgcgt 1620
ctgagctgcg cggcttccgg attcaccttc tccaacgcgt ggatgagctg ggttcgccag 1680
gccccgggca aaggcctrga gtgggttggt cgtatcaagt ctaaaactga cggtggcacc 1740
acggattacg cggctccagt taaaggtcgt tttaccattt cccgcgacga tagcaaaaac 1800
actctgtatc tgcagatgaa ctctctgaaa actgaagaca ccgcagtcta ctactgtact 1860
accccgtggg aatggtcttg gtacgattat tggggccagg gcacgctggt tacggtgtct 1920

agcgctagta ccaagggccc cagcgtgttc ccccctggcac ccagcagcaa gagcacatct 1980
ggcggaacag ccgctctggg ctgtctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 2040
tcttggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 2100
agcggcctgt actccctgtc ctccgtggtc accgtgccct ctagctccct gggaacacag 2160
acatatatct gtaatgtcaa tcacaagcct tccaacacca aagtcgataa gaaagtcgag 2220
cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 2280
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 2340
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2400
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 2460
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2520
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 2580
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atgccgggat 2640
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 2700
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 2760
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 2820
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2880
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 2916

<210> 64
<211> 1353
<212> ДНК
<213> Химера

<400> 64
gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60
agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120
ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180
gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240
ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300
ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360
gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggcccccа gcagcaagag caccagcggc 420
ggcacagccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgagccggt gaccgtgtcc 480
tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct 540
ggcctgtata gcctgagcag cgtggtcacc gtgccttcta gcagcctggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc 660
aagagctgcg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcaccc tgccccccatc ccgggatgag 1080
ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcaggggg acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccgcttcacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1353

<210> 65
<211> 2916
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 65
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaacs gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcatc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggggatc tggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagcccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc ggcggaggct ccggaggcgg cggaagtaga 780
caggccagag tcgtgaacgg gggaggggggg ggaagtgggg gcggaggcag tggggcgga 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgsgct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020
gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcaca aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc 1260

agcagcaaga gcacaagcgg cggaacagcc gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttc 1320
cccgagcccg tgacagtgtc ttggaacagc ggagccctga caagcggcgt gcacaccttc 1380
cctgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac tccctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc 1440
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa 1500
gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt gatggcggag gagggtccgg gggcggagga 1560
tccgaggtgc aattggttga atctggtggt ggtctggtaa aaccgggcgg ttccctgcgt 1620
ctgagctgcg cggcttccgg gttcaccttc tccaacgcgt ggatgagctg ggttcgccag 1680
gccccgggca aaggcctcga gtgggttggt cgtatcaagt ctaaaactga cggtggcacc 1740
acggattacg cggctccagt taaaggtcgt tttaccattt cccgcgacga tagcaaaaac 1800
actctgtatc tgcagatgaa ctctctgaaa actgaagaca ccgcagtcta ctactgtact 1860
accccgtggg aatggtcttg gtacgattat tggggccagg gcacgctggt tacggtgtct 1920
agcgctagta ccaagggccc cagcgtgttc ccctggcac ccagcagcaa gagcacatct 1980
ggcggaacag ccgctctggg ctgtctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 2040
tcttggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 2100
agcggcctgt actccctgtc ctccgtggtc accgtgccct ctagctccct gggaacacag 2160
acatatatct gtaatgtcaa tcacaagcct tccaacacca aagtcgataa gaaagtcgag 2220
cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 2280
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 2340
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2400
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 2460
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2520
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 2580
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atgcccggat 2640
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 2700
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 2760
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 2820
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2880
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 2916

<210> 66
<211> 2916
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 66
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180

agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagcttgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
acegtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggggatc tgggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc gggggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtggcggagg cggaggggggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020
gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcaca aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc 1260
agcagcaaga gcacaagcgg cggaacagcc gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttc 1320
cccgagcccg tgacagtgtc ttggaacagc ggagccctga caagcggcgt gcacaccttc 1380
cctgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac tccctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc 1440
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa 1500
gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt gatggcggag gagggtccgg aggcggaggc 1560
tccgaggtgc aattggttga atctggtggt ggtctggtaa aaccgggcgg ttccctgcgt 1620
ctgagctgcg cggcttccgg attcaccttc tccaacgcgt ggatgagctg ggttcgccag 1680
gccccgggca aaggccttcga gtgggttggt cgtatcaagt ctaaaactga cggtggcacc 1740
acggattacg cggctccagt taaaggtcgt tttaccattt cccgcgacga tagcaaaaac 1800
actctgtatc tgcagatgaa ctctctgaaa actgaagaca ccgcagtcta ctactgtact 1860
accccgtggg aatggtcttg gtacgattat tggggccagg gcacgctggt tacggtgtct 1920
agcgctagta ccaagggccc cagcgtgttc ccccctggcac ccagcagcaa gagcacatct 1980
ggcggaacag ccgctctggg ctgtctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 2040
tcttggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 2100
agcggcctgt actccctgtc ctccgtggtc accgtgccct ctagcttcct gggaacacag 2160
acatatatct gtaatgtcaa tcacaagcct tccaacacca aagtcgataa gaaagtcgag 2220

cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 2280
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 2340
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2400
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 2460
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2520
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 2580
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atgccgggat 2640
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 2700
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 2760
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 2820
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2880
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 2916

<210> 67
<211> 2916
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 67
cagatccagc tggtgcagag cggcctgag ctgaagaaac ccggtgagac agtgcggatc 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gactacagca tccactgggt caagcaggcc 120
cctggcaagt gcctgaagtg gatgggctgg atcaacaccg agacaggcga gcccgcctac 180
gccgacgatt tcaagggcag attcgccttc agcctggaaa ccagcgccag caccgcctac 240
ctgcagatca acaacctgaa gaacgaggac accgccacct ttttctgcgc ccaccctac 300
gactacgacg tgctggatta ttggggccag ggcaccagcg tgaccgtgtc tagcggaggc 360
ggaggatctg gcggcggagg aagtggcgga ggcggatctg ggggaggcgg atctgatacc 420
gtgctgacac agagccctgc cagcctgggg gtgtccctgg gacagagagc caccatcagc 480
tgtcgggcca gcaagagcgt gtccaccagc aactacagct atatccactg gtatcagcag 540
aagcccggcc agcccccccaa gctgctgatc aaatacgtgt cctacctgga aagcggcgtg 600
cccgccagat tttctggctc tggcagcggc accgacttca ccctgaacat ccaccccgtg 660
gaagaggaag atgccgccac ctactactgc cagcacagca gagagttccc ttggaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc ggcggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtggcggagg cggagggggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggccccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020
gccacctact acgccgacag cgtgaaaggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcaca aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc 1260
agcagcaaga gcacaagcgg cggaacagcc gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttc 1320
cccgagcccg tgacagtgtc ttggaacagc ggagccctga caagcggcgt gcacaccttc 1380
cctgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac tccctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc 1440
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa 1500
gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt gatggcggag gagggtccgg aggcggaggc 1560
tccgaggtgc aattggttga atctggtggt ggtctggtaa aaccgggcgg ttccctgcgt 1620
ctgagctgcg cggcttccgg attcaccttc tccaacgcgt ggatgagctg ggttcgccag 1680
gccccgggca aaggcctcga gtgggttggt cgtatcaagt ctaaaactga cggtggcacc 1740
acggattacg cggctccagt taaaggtcgt tttaccattt cccgcgacga tagcaaaaac 1800
actctgtatc tgcagatgaa ctctctgaaa actgaagaca ccgcagtcta ctactgtact 1860
accccgtggg aatggtcttg gtacgattat tggggccagg gcacgctggt tacggtgtct 1920
agcgctagta ccaagggccc cagcgtgttc ccctggcac ccagcagcaa gagcacatct 1980
ggcggaacag ccgctctggg ctgtctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 2040
tcttggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 2100
agcggcctgt actccctgtc ctccgtggtc accgtgccct ctagctccct gggaacacag 2160
acatatatct gtaatgtcaa tcacaagcct tccaacacca aagtcgataa gaaagtcgag 2220
cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 2280
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 2340
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2400
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcgggg ggagcagtac 2460
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2520
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 2580
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgcccc atgccgggat 2640
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 2700
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 2760
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 2820
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2880
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 2916

<210> 68
<211> 99
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 68
ggcgggggag gctccggagg cggcggaagt agacaggcca gagtcgtgaa cgggggaggg 60
gggggaagtg ggggcggaag cagtgggggc ggaggatcc 99

<210> 69
<211> 1350
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 69
caggtgcagc tggtccagag cggcgccgag gtgaagaaac ccgggtcctc tgtcaaggtg 60
tcatgcaagg ctagcggatt cacctttaca gactacaaaa tccactgggt taggcaggca 120
cctggccaag gactcgaatg gatggggtat ttcaacccaa attccggcta ctctacctat 180
gcccagaagt ttcagggaag agtgactatt acagctgata agagtaccag cactgcatac 240
atggagctgt cctctcttcg ctcagaggac accgccgtct actattgtgc tcggctgagc 300
cccggtggct actatgtgat ggatgcatgg gggcagggaa caaccgtaac agtgtcctct 360
gcgtcgacta agggcccttc agttttttcca ctcgcccccа gtagcaagtc cacatctggg 420
ggtaccgctg ccctgggctg ccttgtgaaa gactatttcc ctgaaccagt cactgtgtca 480
tggaatagcg gagccctgac ctccggtgta cacacattcc ccgctgtgtt gcagtctagt 540
ggcctgtaca gcctctcctc tgttgtgacc gtcccttcaa gctccctggg gacacagacc 600
tatatctgta acgtgaatca taagccatct aacactaaag tagataaaaa agtggagccc 660
aagagttgcg acaaaacaca cacctgtccc ccttgcccag cccccgagct tctgggaggc 720
cctagcgtct ttctcttccc acccaagcct aaggatactc tgatgatatc caggacccca 780
gaagttacat gcgtggtcgt ggacgtctca cacgaggacc ccgaagtgaa atttaactgg 840
tacgttgatg gtgtggaagt ccataatgcc aagaccaagc ctagagagga gcaatacaac 900
agtacatatc gcgtggtaag cgtgttgacc gttctccacc aggactggct caatgggaaa 960
gaatacaagt gtaaagtgtc caacaaagct ctgccagcac ccatcgagaa gactatttct 1020
aaggccaaag gccagccccg ggagccttcag gtctatacac ttccaccctc aagggatgaa 1080
ctgaccaaga accaagtgag cttgacttgc ctggtaaagg ggttctaccc ttccgacatc 1140
gctgtggagt gggagtctaa tggacaacca gaaaacaatt acaaaaccac acccctgtc 1200
ctcgacagtg atggcagctt tttcctgtat agcaaactta ccgttgacaa gtccagatgg 1260
cagcagggaa acgtgttctc atgtagcgtc atgcacgaag ctttgcataa ccactacaca 1320
cagaaaagcc tcagcctgag tccagggaag 1350

<210> 70
<211> 639
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 70
gacatccaaa tgacccagtc acctagtagc ctctccgcct ctgttggcga cagggtgaca 60
attacatgca gagcttcaca gggtatcaac aattacctga actggtatca gcagaaacca 120

gggaaggccc ccaagcgctt gatatataac accaataacc tgcaaactgg cgtccctagc 180
cggttctccg gatctggtag tggcaccgaa tttacactca ccatcagctc cctgcagcca 240
gaggatttcg ccacatacta ttgtcttcag cataattctt tccccacctt tgggcaagga 300
actaaactgg agattaagcg tactgtcgcc gctcccctctg tgttcatttt tcctccaagt 360
gatgagcagc tcaaaagcgg taccgcatcc gttgtgtgcc tgcttaacaa cttctatccc 420
cgggaagcca aggtccaatg gaaggtggac aatgctctgc agtcaggaaa cagtcaggag 480
agcgtaaccg agcaggattc caaagactct acttactcat tgagctccac cctgacactc 540
tctaaggcag actatgaaaa gcataaagtg tacgcctgtg aggttaccca ccagggcctg 600
agtagccctg tgacaaagtc cttcaatagg ggagagtgc 639

<210> 71
<211> 1476
<212> ДНК
<213> Химера

<400> 71
gaggttcagc tggagcagtc aggacctgtg ctggtgaagc ctgggacttc agtgaagatg 60
tcctgtaagg cttctggata cacattcact gactactata taaactggat aatacagagc 120
catggaaagt gtcttgagtg gattggagtt attaatcctg acagcggtgg tactgactac 180
aaccagaact tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccac cacagcctac 240
atggaactca ctagcctgac atctgaggac tctgcagtct attattgtgc aagaagggat 300
tcttacggct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc aggcggaggt 360
ggctcagggg gaggcggtag cggcggaggt ggctcagggg gaggcggtag cgacattgtg 420
ctgacccaga ctcccaaatt cctgcttgtg ccagcaggag acaggattac catgacctgc 480
aaggccagtc tgagtgtgac taatgatgta gcttggtatc aacagaaacc agggcagtct 540
cctaaactgc tgttatacta tgcatccaat cgcaacgctg gagtccctga tcgcttcact 600
ggcagtggat atgggacgga tttcactttc accatcacca ctttgcaggc tgaagacctg 660
gcagtttatt tctgtcagca ggattatacc tctcctccga cgttcggttg tggcaccaag 720
ctagaaatcc gtggtggcgg cggttctggc ggaggggtt ctggccccct ggggctatgg 780
agccagggtg gcggcggttc tggcggaggg ggttctggcg gtggtggctc tggcggtgac 840
atccaaatga cccagtcacc tagtagcctc tccgcctctg ttggcgacag ggtgacaatt 900
acatgcagag cttcacaggg tatcaacaat tacctgaact ggtatcagca gaaaccaggg 960
aaggccccca agcgcttgat atataacacc aataacctgc aaactggcgt ccctagccgg 1020
ttctccggat ctggtagtgg caccgaattt acactcacca tcagctccct gcagccagag 1080
gatttcgcca catactattg tcttcagcat aattctttcc ccacctttgg gcaaggaact 1140
aaactggaga ttaagcgtac tgtcgccgct ccctctgtgt tcatttttcc tccaagtgat 1200
gagcagctca aaagcggtac cgcatccgtt gtgtgcctgc ttaacaactt ctatccccgg 1260

gaagccaagg tccaatggaa ggtggacaat gctctgcagt caggaaacag tcaggagagc 1320

gtaaccgagc aggattccaa agactctact tactcattga gctccaccct gacactctct 1380

aaggcagact atgaaaagca taaagtgtac gcctgtgagg ttacccacca gggcctgagt 1440

agccctgtga caaagtcctt caatagggga gagtgc 1476

<210> 72
<211> 971
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 72

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Val His
245 250 255

Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
325 330 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
340 345 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
355 360 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
370 375 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
405 410 415

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
420 425 430

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
435 440 445

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
450 455 460

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
465 470 475 480

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
485 490 495

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
515 520 525

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
530 535 540

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln
545 550 555 560

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr
565 570 575

Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
595 600 605

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu
610 615 620

Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
625 630 635 640

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
645 650 655

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
660 665 670

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
675 680 685

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
690 695 700

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
705 710 715 720

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
725 730 735

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
740 745 750

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
755 760 765

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
770 775 780

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
785 790 795 800

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
805 810 815

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
820 825 830

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
835 840 845

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
850 855 860

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
865 870 875 880

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
885 890 895

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
900 905 910

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
915 920 925

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
930 935 940

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
945 950 955 960

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
965 970

<210> 73
<211> 689
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 73

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

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

20 25 30

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

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

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

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

Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
245 250 255

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
260 265 270

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
275 280 285

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe

290 295 300

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305 310 315 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
325 330 335

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
340 345 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
355 360 365

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
370 375 380

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
385 390 395 400

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
405 410 415

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
420 425 430

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
450 455 460

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
465 470 475 480

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
485 490 495

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
500 505 510

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
515 520 525

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
530 535 540

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
545 550 555 560

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys

565 570 575

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
580 585 590

Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
595 600 605

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
610 615 620

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
625 630 635 640

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
645 650 655

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
660 665 670

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
675 680 685

Lys

<210> 74
<211> 497
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 74

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

```
Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val
385                 390                 395                 400

Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr
                405                 410                 415

Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala
            420                 425                 430

Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr
        435                 440                 445

Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser
    450                 455                 460

Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val
465                 470                 475                 480

Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys
                485                 490                 495

Ser
```

<210> 75
<211> 497
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 75

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
```

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val
385 390 395 400

Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr
405 410 415

Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala
420 425 430

Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr
435 440 445

Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser
450 455 460

Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val
465 470 475 480

Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys
485 490 495

Ser

<210> 76
<211> 674
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 76

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

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

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu
225 230 235 240

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
245 250 255

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln
260 265 270

Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys
275 280 285

Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
290 295 300

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
305 310 315 320

Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly
325 330 335

Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
340 345 350

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
355 360 365

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
385 390 395 400

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
405 410 415

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
420 425 430

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
435 440 445

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
450 455 460

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
465 470 475 480

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
485 490 495

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
500 505 510

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
515 520 525

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
530 535 540

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
545 550 555 560

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
565 570 575

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
580 585 590

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
595 600 605

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
610 615 620

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
625 630 635 640

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
645 650 655

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
660 665 670

Gly Lys

<210> 77
<211> 449
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 77

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 78
<211> 213
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 78

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

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

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

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

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
85 90 95

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

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 79
<211> 514
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 79

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

```
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
    130                 135                 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145                 150                 155                 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
                165                 170                 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
            180                 185                 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225                 230                 235                 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Val His
                245                 250                 255

Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
        275                 280                 285
```

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
325 330 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
340 345 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
355 360 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
370 375 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
405 410 415

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
420 425 430

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
435 440 445

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
450 455 460

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
465 470 475 480

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
485 490 495

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
500 505 510

Glu Cys

<210> 80
<211> 514
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 80

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
    130                 135                 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145                 150                 155                 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
                165                 170                 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
            180                 185                 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225                 230                 235                 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            260                 265                 270
```

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
            275                 280                 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
        290                 295                 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305                 310                 315                 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
                325                 330                 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
            340                 345                 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
            355                 360                 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
        370                 375                 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385                 390                 395                 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
                405                 410                 415

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
            420                 425                 430

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
            435                 440                 445

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
        450                 455                 460

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
465                 470                 475                 480

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
                485                 490                 495

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
            500                 505                 510

Glu Cys
```

<210> 81
<211> 232
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 82
<211> 956
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 82

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Val His
245 250 255

Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
385 390 395 400

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
405 410 415

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
420 425 430

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
435 440 445

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
450 455 460

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
465 470 475 480

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
485 490 495

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
500 505 510

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
515 520 525

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val
530 535 540

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Leu Ile Thr Pro
545 550 555 560

Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr
565 570 575

Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser
580 585 590

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr
595 600 605

Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
610 615 620

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
625 630 635 640

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
645 650 655

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
660 665 670

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
675 680 685

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
690 695 700

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
705 710 715 720

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
725 730 735

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
740 745 750

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
755 760 765

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
770 775 780

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
785 790 795 800

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
805 810 815

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
820 825 830

Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
835 840 845

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
850 855 860

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
865 870 875 880

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
885 890 895

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
900 905 910

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
915 920 925

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
930 935 940

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
945 950 955

<210> 83
<211> 956
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 83

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
385 390 395 400

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
405 410 415

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
420 425 430

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
435 440 445

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
450 455 460

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
465 470 475 480

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
485 490 495

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
500 505 510

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
515 520 525

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val
530 535 540

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Leu Ile Thr Pro
545 550 555 560

Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr
565 570 575

Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser
580 585 590

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr
595 600 605

Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
610 615 620

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
625 630 635 640

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
645 650 655

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
660 665 670

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
675 680 685

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
690 695 700

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
705 710 715 720

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
725 730 735

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
740 745 750

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
755 760 765

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
770 775 780

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
785 790 795 800

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
805 810 815

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
820 825 830

Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
835 840 845

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
850 855 860

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
865 870 875 880

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
885 890 895

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
900 905 910

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
915 920 925

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
930 935 940

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
945 950 955

<210> 84
<211> 674
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 84

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

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

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

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

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

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

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala
100 105 110

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

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
130 135 140

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
145 150 155 160

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

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

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
195 200 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
225 230 235 240

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly
245 250 255

Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
260 265 270

Met Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys
275 280 285

Phe Arg Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
290 295 300

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
305 310 315 320

Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
340 345 350

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
355 360 365

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
385 390 395 400

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
405 410 415

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
420 425 430

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
435 440 445

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
450 455 460

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
465                 470                 475                 480

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
                485                 490                 495

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
            500                 505                 510

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
        515                 520                 525

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
    530                 535                 540

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
545                 550                 555                 560

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
                565                 570                 575

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
            580                 585                 590

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
        595                 600                 605

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
    610                 615                 620

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
625                 630                 635                 640

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
                645                 650                 655

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
            660                 665                 670

Gly Lys
```

<210> 85
<211> 971
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 85

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
```

20 25 30

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Phe Val Gly Gly Thr Gly Gly Gly
260 265 270

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys

290 295 300

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser Lys
325 330 335

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
340 345 350

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
355 360 365

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
370 375 380

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
405 410 415

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
420 425 430

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
435 440 445

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
450 455 460

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
465 470 475 480

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
485 490 495

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
515 520 525

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
530 535 540

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser Trp Val Arg Gln
545 550 555 560

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr

565 570 575

Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
595 600 605

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu
610 615 620

Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
625 630 635 640

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
645 650 655

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
660 665 670

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
675 680 685

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
690 695 700

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
705 710 715 720

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
725 730 735

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
740 745 750

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
755 760 765

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
770 775 780

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
785 790 795 800

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
805 810 815

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
820 825 830

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

835 840 845

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
850 855 860

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
865 870 875 880

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
885 890 895

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
900 905 910

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
915 920 925

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
930 935 940

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
945 950 955 960

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
965 970

<210> 86
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 86

Gly Gly Gly Gly Ser Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg
1 5 10 15

Gln Ala Arg Val Val Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 87
<211> 35
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 87

Gly Gly Gly Gly Ser Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg
1 5 10 15

Gln Ala Arg Val Val Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Gly
35

<210> 88
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 88

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Phe
1 5 10 15

Val Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 89
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 89

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Lys Lys Ala Ala Pro Val
1 5 10 15

Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 90
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 90

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Met Ala Lys Lys Val
1 5 10 15

Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 91
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 91

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Arg Ala Lys Val
1 5 10 15

Asn Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 92
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 92

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val His Met Pro Leu Gly
1 5 10 15

Phe Leu Gly Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 93
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 93

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Arg Ala Lys Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 94
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 94

Gly Gly Gly Gly Ser Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Pro
1 5 10 15

Met Ala Lys Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 95
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 95

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Lys Lys Ala Ala Pro Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 96
<211> 33
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 96

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Met Ala Lys Lys Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser

<210> 97
<211> 18
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 97

Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg Gln Ala Arg Val Val
1 5 10 15

Asn Gly

<210> 98
<211> 6
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 98

Phe Val Gly Gly Thr Gly
1 5

<210> 99
<211> 8

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 99

Lys Lys Ala Ala Pro Val Asn Gly
1 5

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 100

Pro Met Ala Lys Lys Val Asn Gly
1 5

<210> 101
<211> 8
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 101

Gln Ala Arg Ala Lys Val Asn Gly
1 5

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 102

Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro
1 5 10

<210> 103
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 103

Gln Ala Arg Ala Lys
1 5

<210> 104
<211> 15
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 104

Val His Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Pro Met Ala Lys Lys
1 5 10 15

<210> 105
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 105

Lys Lys Ala Ala Pro
1 5

<210> 106
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 106

Pro Met Ala Lys Lys
1 5

<210> 107
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 107

Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 108
<211> 17
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 108

Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 109

Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 110

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 111
<211> 7

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 111

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 112

Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
1 5

<210> 113
<211> 119
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 113

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 114
<211> 106
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 114

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

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

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

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

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
85 90 95

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

<210> 115
<211> 120
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 115

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

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

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

Gly Tyr Phe Asn Pro Asn Ser Gly Tyr Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Ser Pro Gly Gly Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 116
<211> 106
<212> PRT

<213> Химерна

<400> 116

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

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

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

Tyr Asn Thr Asn Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

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

<210> 117
<211> 648
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 117

```
caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg      60
acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa     120
aagccccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc     180
cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc     240
cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc     300
ggcggaggca ccaagctgac agtcctaggt caacccaagg ctgccccag cgtgaccctg      360
ttccccccca gcagcgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatcagc     420
gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc     480
ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac     540
ctgagcctga ccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgcca ggtgacccac     600
gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagctga                  648
```

<210> 118
<211> 2916
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 118

```
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctggx ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc      60
```

```
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct   120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac   180
agcgccctga tcagcagact gagcatcttc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg   240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc   300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg   360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggatc tggggaggc    420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca   480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag   540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg   600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg   660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc   720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaagga ggcggcggaa gtgtgcacat gcccctgggc   780
ttcctgggcc ccagacaggc cagagtcgtg aacgggggag gcggaggcag tgggggggga   840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg   900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc   960
caggccccta gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac  1020
gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag  1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt  1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc  1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcaca aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc  1260
agcagcaaga gcacaagcgg cggaacagcc gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttc  1320
cccgagcccg tgacagtgtc ttggaacagc ggagccctga caagcggcgt gcacaccttc  1380
cctgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac tccctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc  1440
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa  1500
gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt gatggcggag gagggtccgg gggcggagga  1560
tccgaggtgc aattggttga atctggtggt ggtctggtaa aaccgggcgg ttccctgcgt  1620
ctgagctgcg cggcttccgg gttcaccttc tccaacgcgt ggatgagctg ggttcgccag  1680
gcccctgggca aaggcctcga gtgggttggt cgtatcaagt ctaaaactga cggtggcacc  1740
acggattacg cggctccagt taaaggtcgt tttaccattt cccgcgacga tagcaaaaac  1800
actctgtatc tgcagatgaa ctctctgaaa actgaagaca ccgcagtcta ctactgtact  1860
accccgtggg aatggtcttg gtacgattat tggggccagg gcacgctggt tacggtgtct  1920
agcgctagta ccaagggccc cagcgtgttc ccccctggcac ccagcagcaa gagcacatct  1980
ggcggaacag ccgctctggg ctgtctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg  2040
tcttggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc  2100
```

agcggcctgt actccctgtc ctccgtggtc accgtgccct ctagctccct gggaacacag 2160
acatatatct gtaatgtcaa tcacaagcct tccaacacca aagtcgataa gaaagtcgag 2220
cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 2280
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 2340
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2400
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 2460
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2520
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 2580
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atgcccgggat 2640
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 2700
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 2760
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 2820
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2880
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 2916

<210> 119
<211> 2070
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 119
gaggtgcaat tggttgaatc tggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg 60
agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc 120
ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg 180
gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact 240
ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc 300
ccgtgggaat ggtcttggta cgattattgg ggccagggca cgctggttac ggtgtcttcc 360
gctagcacaa agggccctag cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag cacaagcggc 420
ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc cggagcccgt gacagtgtct 480
tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc 540
ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc 660
aagagctgtg atggcggagg agggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa 720
tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc 780
ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg ccctggcaa aggcctggaa 840
tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg 900
aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac 960

agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac 1020
agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgct 1080
agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcacccagca gcaagagcac atctggcgga 1140
acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg 1200
aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttttccag ccgtgctgca gagcagcggc 1260
ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat 1320
atctgtaatg tcaatcacaa gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag 1380
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc aggggggaccg 1440
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 1500
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 1560
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1620
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1680
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1740
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg 1800
accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1860
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1920
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1980
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 2040
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 2070

<210> 120
<211> 1494
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 120
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctgggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggggatc tgggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720

ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc gggggaggct ccggaggcgg cggaagtaga 780
caggccagag tcgtgaacgg gggaggggag ggaagtgggg gcggaggcag tgggggcgga 840
ggatcccagg ccgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtctcctgg cggcaccgtg 900
accctgacat gtggcagttc tacaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg 960
caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagccccc 1020
ggcacccctg ccagattcag cggatctctg ctgggaggaa aggccgccct gacactgtct 1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccgagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg 1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtc ctaggtcaac ccaaggctgc ccccagcgtg 1200
accctgttcc ccccccagcag cgaggaactg caggccaaca aggccaccct ggtctgcctg 1260
atcagcgact tctacccagg cgccgtgacc gtggcctgga aggccgacag cagccccgtg 1320
aaggccggcg tggagaccac caccccttcagc aagcagagca acaacaagta cgccgccagc 1380
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagagccaca ggtcctacag ctgccaggtg 1440
acccacgagg gcagcaccgt ggagaaaacc gtggccccca ccgagtgcag ctga 1494

<210> 121
<211> 1494
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 121
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gagggggatc tggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc gggggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtggcggagg cggagggggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatcccagg ccgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtctcctgg cggcaccgtg 900
accctgacat gtggcagttc tacaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg 960
caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagccccc 1020

ggcaccccctg ccagatttcag cggatcttctg ctgggaggaaa aggccgccct gacactgtct 1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccgagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg 1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtc ctaggtcaac ccaaggctgc ccccagcgtg 1200
accctgttcc ccccccagcag cgaggaactg caggccaaca aggccaccct ggtctgcctg 1260
atcagcgact tctacccagg cgccgtgacc gtggcctgga aggccgacag cagccccgtg 1320
aaggccggcg tggagaccac caccccagc aagcagagca acaacaagta cgccgccagc 1380
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagagccaca ggtcctacag ctgccaggtg 1440
acccacgagg gcagcaccgt ggagaaaacc gtggcccccca ccgagtgcag ctga 1494

<210> 122
<211> 2025
<212> ДНК
<213> Химера

<400> 122
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc ggctacacca tgaactgggt gcgccaggct 120
cctggacagg gcctggaatg gatgggcctg atcaccccct acaacggcgc cagcagctac 180
aaccagaagt tccgggggcaa ggccaccatg accgtggaca ccagcacctc caccgtgtat 240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cagaggcggc 300
tacgacggca gaggcttcga ttattggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcctctgct 360
agcaccaagg gcccctccgt gtttcctctg gcccccttcca gcaagtccac ctctggcgga 420
actgccgctc tgggctgcct ggtggaagat tacttccccg agccgtgac cgtgtcctgg 480
aattctggcg ctctgacctc cggcgtgcac accttttccag ctgtgctgca gtcctccggc 540
ctgtactccc tgtcctccgt cgtgacagtg ccctccagct ctctgggcac ccagacctac 600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccctccaac accaaggtgg acgagaaggt ggaacccaag 660
tcctgcgacg gtggcggagg ttccggaggc ggaggatccc aggctgtcgt gacccaggaa 720
ccctccctga cagtgtctcc tggcggcacc gtgaccctga cctgtggatc ttctaccggc 780
gctgtgacca cctccaacta cgccaattgg gtgcaggaaa agcccggcca ggccttcaga 840
ggactgatcg gcggcaccaa caagagagcc cctggcaccc ctgccagatt ctccggttct 900
ctgctgggcg gcaaggctgc cctgactctg tctggtgctc agcctgagga cgaggccgag 960
tactactgcg ccctgtggta ctccaacctg tgggtgttcg gcggaggcac caagctgacc 1020
gtgctgtcca gcgcttccac caagggaccc agtgtgtttcc ccctggcccc cagctccaag 1080
tctacatccg gtggcacagc tgccctggga tgtctcgtga aggactactt tcctgagcct 1140
gtgacagtgt ctttggaacag cggagccctg accagcggag tgcacacatt ccctgcagtg 1200
ctgcagagca gcggcctgta tagcctgagc agcgtcgtga ccgtgccttc ctctagcctg 1260
ggaacacaga catatatctg taatgtgaat cataagccca gtaataccaa agtggataag 1320
aaagtggaac ctaagagctg cgataagacc cacacctgtc ccccctgccc tgctcctgaa 1380

gctgctggtg gccctagcgt gttcctgttc cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc 1440
tcccggaccc cgaagtgac ctgcgtggtg gtggatgtgt cccacgagga ccctgaagtg 1500
aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag 1560
gaacagtaca actccaccta ccgggtggtg tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg 1620
ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg tccaacaagg ccctgggcgc tcccatcgaa 1680
aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc cgggaacccc aggtgtacac cctgccccca 1740
tgccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgtggt gcctggtcaa aggcttctat 1800
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1860
acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac 1920
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1980
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga 2025

<210> 123
<211> 1350
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 123
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc ggctacacca tgaactgggt gcgccaggct 120
cctggacagg gcctggaatg gatgggcctg atcaccccct acaacggcgc cagcagctac 180
aaccagaagt tccgggggcaa ggccaccatg accgtggaca ccagcacctc caccgtgtat 240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cagaggcggc 300
tacgacggca gaggcttcga ttattggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcctctgct 360
agcaccaagg gcccctccgt gttccccctg gcccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420
acagccgctc tgggctgcct ggtcgaggac tacttccccg agccgtgac cgtgtcctgg 480
aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagttctggc 540
ctgtatagcc tgagcagcgt ggtcaccgtg ccttctagca gcctgggcac ccagacctac 600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acgagaaggt ggagcccaag 660
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc aggggaccg 720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080
accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1350

<210> 124
<211> 642
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 124
gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc 60
atcacctgta gcgccagcag cagcgtgtcc tacatgcact ggtatcagca gaagtccggc 120
aaggccccca agctgctgat ctacgacacc agcaagctgg cctccggcgt gccccagcag 180
ttttctggca gcggctccgg caccgacttc accctgacaa tcagctccct ccagccgag 240
gacttcgcca cctactactg ccagcagtgg tccaagcacc ccctgacctt tggccagggc 300
accaagctgg aaatcaagcg tacggtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct 360
gatcggaagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 420
agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag 480
agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 540
agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 600
agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt ag 642

<210> 125
<211> 1545
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 125
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggggatc tgggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagcccc gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720

ggctgcggca ccaagctgga aatcaaagga ggcggcggaa gtgtgcacat gccccctgggc 780
ttcctgggcc ccagacaggc cagagtcgtg aacgggggggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020
gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtccaag cgctagcgtg gccgctccct ccgtgttcat cttcccacct 1260
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgct tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 1320
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caacagccag 1380
gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc 1440
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 1500
ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gctga 1545

<210> 126
<211> 1545
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 126
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggatc tggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc ggcggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtggcggagg cggagggggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020

gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcgtg gccgctccct ccgtgttcat ctttccacct 1260
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgct tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 1320
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caacagccag 1380
gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc 1440
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 1500
ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gctga 1545

<210> 127
<211> 699
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 127
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc acctacgcca tgaactgggt gcgacaggct 120
cctggcaagg gcctggaatg ggtgtcccgg atcagatcca agtacaacaa ctacgccacc 180
tactacgccg actccgtgaa gggccggttc accatctctc gggacgactc caagaacacc 240
ctgtacctgc agatgaactc cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg 300
cacggcaact tcggcaactc ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc 360
gtgaccgtgt catctgctag cgtggccgct ccctccgtgt tcatcttccc accttccgac 420
gagcagctga agtccggcac cgcttctgtc gtgtgcctgc tgaacaactt ctaccccgc 480
gaggccaagg tgcagtggaa ggtggacaac gccctgcagt ccggcaacag ccaggaatcc 540
gtgaccgagc aggactccaa ggacagcacc tactccctgt cctccaccct gaccctgtcc 600
aaggccgact acgagaagca caaggtgtac gcctgcgaag tgacccacca gggcctgtct 660
agccccgtga ccaagtcttt caaccggggc gagtgctga 699

<210> 128
<211> 2871
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 128
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctgggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360

tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gagggggatc tgggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgccctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct accctggccctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaagga ggcggcggaa gtgtgcacat gccccctgggc 780
ttcctgggcc ccagacaggc cagagtcgtg aacgggggcg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatcccagg ccgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtctcctgg cggcaccgtg 900
accctgacat gtggcagttc tacaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg 960
caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagccccct 1020
ggcaccctg ccagattcag cggatctctg ctgggaggaa aggctgccct gacactgtct 1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccgagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg 1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgagcagcg cttccaccaa gggacccagt 1200
gtgttccccc tggcccccag ctccaagtct acatccggtg gcacagctgc cctgggatgt 1260
ctcgtgaagg actactttcc tgagcctgtg acagtgtctt ggaacagcgg agccctgacc 1320
agcggagtgc acacattccc tgcagtgctg cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc 1380
gtcgtgaccg tgccttcctc tagcctggga acacagacat atatctgtaa tgtgaatcat 1440
aagcccagta ataccaaagt ggataagaaa gtggaaccta agagctgcga tggcggagga 1500
gggtccggag gcggagggtc ccaggtgcag ctggtgcagt ctggcgccga agtgaagaaa 1560
ccaggcgcca gcgtgaaggt gtcctgcaag gccagcggct acagcttcac cggctacacc 1620
atgaactggg tgcgccaggc tcctggacag ggcctggaat ggatgggcct gatcaccctc 1680
tacaacggcg ccagcagcta caaccagaag ttccgggggca aggccaccat gaccgtggac 1740
accagcacct ccaccgtgta tatggaactg agcagcctgc ggagcgagga caccgccgtg 1800
tactattgtg ccagaggcgg ctacgacggc agaggcttcg attattgggg ccagggcacc 1860
ctcgtgaccg tgtcctctgc tagcaccaag ggcccctccg tgttccccct ggccccagc 1920
agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct ctgggctgcc tggtcgagga ctacttcccc 1980
gagccgtga ccgtgtcctg gaacagcgga gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc 2040
gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc 2100
agcctgggca cccagaccta catctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg 2160
gacaagaagg tggagcccaa gagctgcgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca 2220
cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc 2280
atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct 2340
gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg 2400

cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag 2460
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc 2520
atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg 2580
cccccatgcc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc 2640
ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 2700
aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcctctacag caagctcacc 2760
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 2820
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtaaatg a 2871

<210> 129
<211> 2871
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 129
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgaccagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggggatc tgggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac attgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc gggggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtggcggagg cggagggggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatcccagg ccgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtctcctgg cggcaccgtg 900
accctgacat gtggcagttc tacaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg 960
caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagccccct 1020
ggcaccctg ccagattcag cggatctctg ctgggaggaa aggccgccct gacactgtct 1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccgagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg 1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgagcagcg cttccaccaa gggacccagt 1200
gtgttccccc tggccccag ctccaagtct acatccggtg gcacagctgc cctgggatgt 1260
ctcgtgaagg actactttcc tgagcctgtg acagtgtctt ggaacagcgg agccctgacc 1320

agcggagtgc acacattccc tgcagtgctg cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc 1380
gtcgtgaccg tgccttcctc tagcctggga acacagacat atatctgtaa tgtgaatcat 1440
aagcccagta ataccaaagt ggataagaaa gtggaacctа agagctgcga tggcggagga 1500
gggtccggag gcggagggtc ccaggtgcag ctggtgcagt ctggcgccga agtgaagaaa 1560
ccaggcgcca gcgtgaaggt gtcctgcaag gccagcggct acagcttcac cggctacacc 1620
atgaactggg tgcgccaggc tcctggacag ggccttggaat ggatgggcct gatcaccccc 1680
tacaacggcg ccagcagcta caaccagaag ttccggggca aggccaccat gaccgtggac 1740
accagcacct ccaccgtgta tatggaactg agcagcctgc ggagcgagga caccgccgtg 1800
tactattgtg ccagaggcgg ctacgacggc agaggcttcg attattgggg ccagggcacc 1860
ctcgtgaccg tgtcctctgc tagcaccaag ggcccctccg tgttccccct ggccccagc 1920
agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct ctgggctgcc tggtcgagga ctacttcccc 1980
gagcccgtga ccgtgtcctg gaacagcgga gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc 2040
gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc 2100
agcctgggca cccagaccta catctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg 2160
gacgagaagg tggagcccaa gagctgcgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca 2220
cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc 2280
atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct 2340
gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg 2400
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag 2460
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc 2520
atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg 2580
ccccatgcc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc 2640
ttctatcccа gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 2700
aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcctctacag caagctcacc 2760
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 2820
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtaaatg a 2871

<210> 130
<211> 2025
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 130
caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60
acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120
aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaaggaggc ccctggcacc 180
cctgccagat tctccggttc tctgctgggc ggcaaggctg ccctgactct gtctggtgct 240
cagcctgagg acgaggccga gtactactgc gccctgtggt actccaacct gtgggtgttc 300

```
ggcggaggca ccaagctgac cgtgctgtcc agcgcttcca ccaagggacc cagtgtgttc      360
cccctggccc ccagctccaa gtctacatcc ggtggcacag ctgccctggg atgtctcgtg      420
aaggactact ttcctgagcc tgtgacagtg tcttggaaca gcggagcccc gaccagcgga      480
gtgcacacat tccctgcagt gctgcagagc agcggcctgt atagcctgag cagcgtcgtg      540
accgtgcctt cctctagcct gggaacacag acatatatct gtaatgtgaa tcataagccc      600
agtaatacca aagtggataa gaaagtggaa cctaagagct gcgatggcgg aggagggtcc      660
ggaggcggag ggtcccaggt gcagctggtg cagtctggcg ccgaagtgaa gaaaccaggc      720
gccagcgtga aggtgtcctg caaggccagc ggctacagct tcaccggcta caccatgaac      780
tgggtgcgcc aggctcctgg acagggcctg gaatggatgg gcctgatcac ccctacaaac      840
ggcgccagca gctacaacca gaagttccgg ggcaaggcca ccatgaccgt ggacaccagc      900
acctccaccg tgtatatgga actgagcagc ctgcggagcg aggacaccgc cgtgtactat      960
tgtgccagag gcggctacga cggcagaggc ttcgattatt ggggccaggg caccctcgtg     1020
accgtgtcct ctgctagcac caagggcccc tccgtgttcc ccctggcccc cagcagcaag     1080
agcaccagcg gcggcacagc cgctctgggc tgcctggtcg aggactactt ccccgagccc     1140
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg acctccggcg tgcacacctt ccccgccgtg     1200
ctgcagagtt ctggcctgta tagcctgagc agcgtggtca ccgtgccttc tagcagcctg     1260
ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacgag     1320
aaggtggagc ccaagagctg cgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa     1380
gctgcagggg gaccgtcagt cttcctcttc ccccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc     1440
tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc     1500
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag     1560
gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg     1620
ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcggcgc ccccatcgag     1680
aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca     1740
tgccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgtggt gcctggtcaa aggcttctat     1800
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc     1860
acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac     1920
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac     1980
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga                     2025

<210>  131
<211>  2016
<212>  ДНК
<213>  Химерна

<400>  131
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc       60
```

acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgcccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggatc tggggaggc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc ggcggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtttcgtggg ggcggaccgg ggcggaggca gtgggggggg aggatccggg 840
ggatccgagg tgcagctgct ggaatctggc ggcggactgg tgcagcctgg cggatctctg 900
agactgagct gtgccgccag cggcttcacc ttcagcacct acgccatgaa ctgggtgcgc 960
caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg tcccggatca gaagcaagta caacaactac 1020
gccacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga cgacagcaag 1080
aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactattgt 1140
gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc 1200
accctcgtga ccgtgtcaag cgctagcaca aagggcccta gcgtgtttcc tctggccccc 1260
agcagcaaga gcacaagcgg cggaacagcc gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttc 1320
cccgagcccg tgacagtgtc ttggaacagc ggagccctga caagcggcgt gcacaccttc 1380
cctgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac tccctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc 1440
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa 1500
gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt gatggcggag gagggtccgg gggcggagga 1560
tccgaggtgc aattggttga atctggtggt ggtctggtaa aaccgggcgg ttccctgcgt 1620
ctgagctgcg cggcttccgg gttcaccttc tccaacgcgt ggatgagctg ggttcgccag 1680
gccccgggca aaggcctcga gtgggttggt cgtatcaagt ctaaaactga cggtggcacc 1740
acggattacg cggctccagt taaaggtcgt tttaccattt cccgcgacga tagcaaaaac 1800
actctgtatc tgcagatgaa ctctctgaaa actgaagaca ccgcagtcta ctactgtact 1860
acrrrgtggg aatggtrttg gtargattat tggggccagg gcacgctggt tacggtgtct 1920
agcgctagta ccaagggccc cagcgtgttc ccctggcac ccagcagcaa gagcacatct 1980
ggcggaacag ccgctctggg ctgtctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 2040
tcttggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 2100

agtggcctgt actccctgtc ctccgtggtc accgtgccct ctagctcccc gggaacacag 2160
acatatatct gtaatgtcaa tcacaagcct tccaacacca aagtcgataa gaaagtcgag 2220
cccaagagct gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 2280
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 2340
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2400
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcgggg ggagcagtac 2460
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2520
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 2580
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atgccgggat 2640
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 2700
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 2760
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 2820
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 2880
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 2916

<210> 132
<211> 449
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 132

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 133
<211> 214
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 133

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
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 Arg Lys 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> 134
<211> 675
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 134

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

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

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

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

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

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

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala
100 105 110

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

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
130 135 140

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
145 150 155 160

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

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

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
195 200 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
225 230 235 240

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
245 250 255

Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
260 265 270

Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser
275 280 285

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala
290 295 300

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
305 310 315 320

Cys Ser Arg Trp Gly Gly Glu Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
325 330 335

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
355 360 365

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
385 390 395 400

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
405 410 415

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
420 425 430

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
435 440 445

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
450 455 460

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
465 470 475 480

```
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
                485                 490                 495

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
            500                 505                 510

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
        515                 520                 525

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
    530                 535                 540

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
545                 550                 555                 560

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
                565                 570                 575

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
            580                 585                 590

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
        595                 600                 605

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
    610                 615                 620

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
625                 630                 635                 640

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
                645                 650                 655

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
            660                 665                 670

Pro Gly Lys
        675
```

<210> 135
<211> 957
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 135

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
385 390 395 400

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
405 410 415

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
420 425 430

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
435 440 445

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
450 455 460

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
465 470 475 480

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
485 490 495

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
500 505 510

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
515 520 525

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
530 535 540

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
545 550 555 560

Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
565 570 575

Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
580 585 590

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
595 600 605

Glu Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
610 615 620

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
625 630 635 640

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
645 650 655

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
660 665 670

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
675 680 685

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
690 695 700

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
705 710 715 720

Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
725 730 735

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
740 745 750

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
755 760 765

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
770 775 780

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
785 790 795 800

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
805 810 815

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
820 825 830

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
835 840 845

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
850 855 860

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
865 870 875 880

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
885 890 895

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
900 905 910

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
915 920 925

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
930 935 940

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
945 950 955

<210> 136
<211> 957
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 136

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Val His
245 250 255

Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
385 390 395 400

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
405 410 415

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
420 425 430

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
435 440 445

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
450 455 460

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
465 470 475 480

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
485 490 495

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
500 505 510

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
515 520 525

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
530 535 540

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
545 550 555 560

Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
565 570 575

Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
580 585 590

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
595 600 605

Glu Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
610 615 620

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
625 630 635 640

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
645 650 655

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
660 665 670

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
675 680 685

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
690 695 700

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
705 710 715 720

Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
725 730 735

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
740 745 750

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
755 760 765

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
770 775 780

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
785 790 795 800

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
805 810 815

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
820 825 830

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
835 840 845

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
850 855 860

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
865 870 875 880

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
885 890 895

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
900 905 910

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
915 920 925

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
930 935 940

```
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
945                 950                 955


<210>  137
<211>  449
<212>  PRT
<213>  Химерна

<400>  137

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr His Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
```

225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 138
<211> 316
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 138

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Asn Glu His
85 90 95

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

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
115 120 125

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 139
<211> 956
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 139

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
    130                 135                 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145                 150                 155                 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
                165                 170                 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
            180                 185                 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225                 230                 235                 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Val His
                245                 250                 255

Met Pro Leu Gly Phe Leu Gly Pro Arg Gln Ala Arg Val Val Asn Gly
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
        275                 280                 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
    290                 295                 300
```

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
385 390 395 400

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
405 410 415

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
420 425 430

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
435 440 445

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
450 455 460

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
465 470 475 480

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
485 490 495

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
500 505 510

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
515 520 525

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val
530 535 540

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro
545 550 555 560

Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
565 570 575

```
Met Thr His Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser
            580                 585                 590

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Phe Phe
        595                 600                 605

Thr Gly Phe His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
    610                 615                 620

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
625                 630                 635                 640

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
                645                 650                 655

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
            660                 665                 670

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
        675                 680                 685

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
    690                 695                 700

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
705                 710                 715                 720

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
                725                 730                 735

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
            740                 745                 750

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
        755                 760                 765

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
    770                 775                 780

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
785                 790                 795                 800

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
                805                 810                 815

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
            820                 825                 830

Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
        835                 840                 845
```

```
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
    850                 855                 860

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
865                 870                 875                 880

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
                885                 890                 895

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
            900                 905                 910

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
        915                 920                 925

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
    930                 935                 940

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
945                 950                 955
```

<210> 140
<211> 956
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 140

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Lys Gly Ile Thr Thr Val Val Asp Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
```

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Ala
180 185 190

Ala Thr Phe Leu Ala Asp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp
210 215 220

Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
275 280 285

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
305 310 315 320

Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
325 330 335

Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
340 345 350

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala
355 360 365

Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
370 375 380

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
385 390 395 400

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
405 410 415

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
420 425 430

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
435 440 445

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
450 455 460

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
465 470 475 480

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
485 490 495

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
500 505 510

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
515 520 525

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val
530 535 540

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro
545 550 555 560

Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
565 570 575

Met Thr His Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser
580 585 590

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Phe Phe
595 600 605

Thr Gly Phe His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
610 615 620

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
625 630 635 640

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
645 650 655

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
660 665 670

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
675 680 685

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
690 695 700

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
705 710 715 720

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
725 730 735

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
740 745 750

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
755 760 765

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
770 775 780

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
785 790 795 800

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
805 810 815

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
820 825 830

Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
835 840 845

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
850 855 860

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
865 870 875 880

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
885 890 895

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
900 905 910

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
915 920 925

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
930 935 940

```
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
945                 950                 955


<210>  141
<211>  674
<212>  PRT
<213>  Химера

<400>  141

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

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

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

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

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

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

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala
            100                 105                 110

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

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
    130                 135                 140

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
145                 150                 155                 160

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

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

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
        195                 200                 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
```

225 230 235 240

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
245 250 255

Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
260 265 270

Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
275 280 285

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr His Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val
290 295 300

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
305 310 315 320

Cys Ala Arg Ser Phe Phe Thr Gly Phe His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
325 330 335

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
340 345 350

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
355 360 365

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
385 390 395 400

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
405 410 415

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
420 425 430

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
435 440 445

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
450 455 460

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
465 470 475 480

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
485 490 495

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

500 505 510

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
515 520 525

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
530 535 540

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
545 550 555 560

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
565 570 575

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
580 585 590

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
595 600 605

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
610 615 620

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
625 630 635 640

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
645 650 655

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
660 665 670

Gly Lys

<210> 142
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 142

Asp Tyr Thr Met Asp
1 5

<210> 143
<211> 17
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 143

Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Val Asn Arg Arg Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 144

Asn Leu Gly Pro Phe Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 145
<211> 7
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 145

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp
1 5

<210> 146
<211> 20
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 146

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
1 5 10 15

Leu Leu Gly Gly
20

<210> 147
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 147

Thr Lys Leu Thr Val
1 5

<210> 148
<211> 11
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 148

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 149

Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr
1 5

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 150

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 151
<211> 5
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 151

Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 152
<211> 17
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 152

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 153
<211> 10
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 153

Ser Phe Phe Thr Gly Phe His Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 154
<211> 12
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 154

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 155
<211> 7

<212> PRT
<213> Химерна

<400> 155

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 156

Gln Gln Tyr Thr Asn Glu His Tyr Tyr Thr
1 5 10

<210> 157
<211> 119
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 157

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr His Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 158
<211> 109
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 158

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

```
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Asn Glu His
                85                  90                  95

Tyr Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 159
<211> 119
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 159

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 160
<211> 120
<212> PRT

<213> Химерна

<400> 160

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> Химерна

<400> 161

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 162
<211> 1350
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 162
gaagttcagc tggttgaaag cggtggtggt ctggttcagc ctggtggtag cctgcgtctg 60
agctgtgcag caagcggttt tacctttaac gattatacca tggattgggt tcgtcaggca 120
ccgggtaaag gtctggaatg ggttgcagat gttaatccga atagcggtgg tagcattgtt 180
aaccgtcgtt ttaaaggtcg ttttaccctg agcgttgatc gtagcaaaaa taccctgtat 240
ctgcaaatga atagtctgcg tgcagaggat accgcagtgt attattgtgc acgtaacctg 300
ggtccgttct tctactttga ttattggggt cagggcaccc tggttaccgt tagcagcgct 360
agcaccaagg gcccctccgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420
acagccgctc tgggctgcct ggtcgaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480
aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagttctggc 540
ctgtatagcc tgagcagcgt ggtcaccgtg ccttctagca gcctgggcac ccagacctac 600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acgagaaggt ggagcccaag 660
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg 720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgcccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080
accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1350

<210> 163
<211> 645
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 163
gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggccagcca ggacgtgtcc acagccgtgg cctggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacagc gccagcttcc ggtacaccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gcagcagatc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagctc cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cactacacca ccccccccac atttggccag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatcgga agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 184
<211> 2874
<212> ДНК
<213> Химера

<400> 184
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagg gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaacа gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300
accgtggtgg acgactactа cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gagggggatc tggggggagc 420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgccтctgt gggcgagaca 480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca ccтttctggc cgacgatgtg 600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaaggc ggcggaggct ccggaggcgg cggaagtgga 780
ggcggcggaa gtggcggagg cggaggcggg ggaagtgggg gcggaggcag tgggggggga 840
ggatcccagg ccgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtcтcctgg cggcaccgtg 900
accctgacat gtggcagttc tscaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg 960
caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagcccct 1020
ggcaccccтg ccagattcag cggatctctg ctgggaggaa aggccgccct gacactgtct 1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccggagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg 1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgagcgagcg cttccaccaa gggacccagt 1200
gtgttccccc tggccccctg ctccaagtct acatccggtg gcacagctgc cctgggatgt 1260
ctcgtgaagg actactttcc tgagcctgtg acagtgтcтt ggaacagcgg agccctgacc 1320
agcggagtgc acacatttcc tgcagtgctg cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc 1380

gtcgtgaccg tgccttcctc tagcctggga acacagacat atatctgtaa tgtgaatcat 1440
aagcccagta ataccaaagt ggataagaaa gtggaaccta agagctgcga tggcggagga 1500
gggtccggag gcggagggtc cgaggtccag ctggtcgagt ctggaggagg actggtgcag 1560
ccaggcggat ctctgagact gagctgcgcc gccagcggat tcaacatcaa ggacacctac 1620
atccactggg tgaggcaggc ccctggaaag ggactggagt gggtggccag aatctacccc 1680
accaacggct acacaagata cgccgacagc gtgaagggca gattcaccat cagcgccgac 1740
accagcaaga acaccgccta cctgcagatg aacagcctga gagccgagga cacagccgtg 1800
tactactgct ctagatgggg aggcgagggc ttctacgcca tggactactg gggacagggc 1860
acactggtga ccgtgtccag cgctagcacc aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc 1920
agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc gctctgggct gcctggtcga ggactacttc 1980
cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc 2040
cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct 2100
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag 2160
gtggacgaga aggtggagcc caagagctgc gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 2220
gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 2280
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 2340
cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 2400
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 2460
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc 2520
cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 2580
ctgccccccat gccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa 2640
ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 2700
tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc 2760
accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 2820
gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 2874

<210> 165
<211> 2874
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 165
caagtgcagc tgaaagagtc cggccctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60
acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120
ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180
agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300

```
accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg      360
tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gaggggggatc tggggggaggc    420
ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca      480
gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag      540
aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg      600
cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg      660
cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc      720
ggctgcggca ccaagctgga aatcaaagga ggcggcggaa gtgtgcacat gccccctgggc     780
ttcctgggcc ccagacaggc cagagtcgtg aacggggggg gcggaggcag tgggggggga      840
ggatcccagg ccgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtctcctgg cggcaccgtg      900
accctgacat gtggcagttc tacaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg      960
caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagccccct     1020
ggcacccctg ccagattcag cggatctctg ctgggaggaa aggccgccct gacactgtct     1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccgagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg     1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgagcagcg cttccaccaa gggacccagt     1200
gtgttccccc tggcccccag ctccaagtct acatccggtg gcacagctgc cctgggatgt     1260
ctcgtgaagg actactttcc tgagcctgtg acagtgtctt ggaacagcgg agccctgacc     1320
agcggagtgc acacattccc tgcagtgctg cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc     1380
gtcgtgaccg tgccttcctc tagcctgggg acacagacat atatctgtaa tgtgaatcat     1440
aagcccagta ataccaaagt ggataagaaa gtggaaccta agagctgcga tggcggagga     1500
gggtccggag gcggagggtc cgaggtccag ctggtcgagt ctggaggagg actggtgcag     1560
ccaggcggat ctctgagact gagctgcgcc gccagcggat tcaacatcaa ggacacctac     1620
atccactggg tgaggcaggc ccctggaaag ggactggagt gggtggccag aatctacccc     1680
accaacggct acacaagata cgccgacagc gtgaagggca gattcaccat cagcgccgac     1740
accagcaaga acaccgccta cctgcagatg aacagcctga gagccgagga cacagccgtg     1800
tactactgct ctagatgggg aggcgagggc ttctacgcca tggactactg gggacagggc     1860
acactggtga ccgtgtccag cgctagcacc aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc     1920
agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc gctctgggct gcctggtcga ggactacttc     1980
cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc     2040
cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat agcctgagca gcgtggtcac cgtgcccttct     2100
agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag     2160
gtggacgaga aggtggagcc caagagctgc gacaaaactc acacatgccc accgtgccca     2220
gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc     2280
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac     2340
```

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 2400
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 2460
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc 2520
cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 2580
ctgccccca gccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa 2640
ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 2700
tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc 2760
accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 2820
gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 2874

<210> 166
<211> 1350
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 166
caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg 60
agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc 120
ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac 180
gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat 240
atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc 300
ttcactggtt tccatctgga ctattggggt caaggcaccc tcgtaacggt ttcttctgct 360
agcaccaagg gcccctccgt gttccccctg gccccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420
acagccgctc tgggctgcct ggtcgaggac tacttccccg agccccgtgac cgtgtcctgg 480
aacagcggag ccctgaccta cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagttctggc 540
ctgtatagcc tgagcagcgt ggtcaccgtg ccttctagca gcctgggcac ccagacctac 600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acgagaaggt ggagcccaag 660
agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc aggggggaccg 720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080
accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagaggcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1350

<210> 167
<211> 651
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 167
gaaatcgtgt taacgcagtc ttcaggcacc ctgtctttgt ctccaggggа aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatacca acgaacatta ttatacgttc 300

ggccagggga ccaaagtgga aatcaaacgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 360

ccgccatctg atcggaagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 420

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 480

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 540

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 600

cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta g 651

<210> 168
<211> 2871
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 168
caagtgcagc tgaaagagtc cggcctctgga ctggtggccc ctagccagag cctgagcatc 60

acctgtaccg tgtccggctt cagcctgacc agctacggcg tgtcatgggt gcgccagcct 120

ccaggcaagt gtctggaatg gctgggcatc atctggggcg acggcagcac caattaccac 180

agcgccctga tcagcagact gagcatctcc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg 240

aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgccaa gggcatcacc 300

accgtggtgg acgactacta cgctatggac tactggggcc agggcaccag cgtgacagtg 360

tctagcggag gcggaggatc tggcggcgga ggaagtggcg gagggggatc tggggggagc 420

ggaagcgata tccagatgac ccagagccct gccagcctgt ctgcctctgt gggcgagaca 480

gtgaccatca catgccgggc cagcgagaac atcgacagct acctggcctg gtatcagcag 540

aagcagggca agagccccca gctgctggtg tacgccgcca cctttctggc cgacgatgtg 600

cccagcagat tcagcggcag cggaagcggc acacagtaca gcctgaagat caactccctg 660

cagagcgagg acgtggcccg gtactactgc cagcactact acagcacccc ctacaccttc 720

ggctgcggca ccaagctgga aatcaaagga ggcggcggaa gtgtgcacat gcccctgggc 780

ttcctgggcc ccagacaggc cagagtcgtg aacgggggggg gcggaggcag tgggggggga 840

ggatcccagg crgtcgtgac ccaggaaccc agcctgacag tgtctcctgg cggcaccgtg 900

```
accctgacat gtggcagttc tacaggcgcc gtgaccacca gcaactacgc caactgggtg      960
cagggaaagc ccggccaggc cttcagagga ctgatcggcg gcaccaacaa gagagccccc     1020
ggcaccccctg ccagattcag cggatctctg ctgggaggaa aggccgccct gacactgtct     1080
ggcgcccagc cagaagatga ggccgagtac tactgcgccc tgtggtacag caacctgtgg     1140
gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgagcagcg cttccaccaa gggacccagt     1200
gtgttccccc tggcccccag ctccaagtct acatccggtg gcacagctgc cctgggatgt     1260
ctcgtgaagg actactttcc tgagcctgtg acagtgtctt ggaacagcgg agccctgacc     1320
agcggagtgc acacattccc tgcagtgctg cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc     1380
gtcgtgaccg tgccttcctc tagcctggga acacagacat atatctgtaa tgtgaatcat     1440
aagcccagta ataccaaagt ggataagaaa gtggaaccta agagctgcga tggcggagga     1500
gggtccggag gcggagggtc ccaggtgcaa ttggttcaat ctggtgctga agtaaaaaaa     1560
ccgggcgctt ccgttaaagt gagctgcaaa gcatccggat acaccttcac ttcctattac     1620
atgcactggg ttcgtcaagc ccctgggccag ggtctggaat ggatgggcat cattaaccca     1680
agcggtggct ctacctccta cgcgcagaaa ttccagggtc gcgtcacgat gacccatgac     1740
actagcacct ctaccgttta tatggagctg tccagcctgc gttctgaaga tactgcagtg     1800
tactactgtg cacgctcttt cttcactggt ttccatctgg actattgggg tcaaggcacc     1860
ctcgtaacgg tttcttctgc tagcaccaag ggcccctccg tgttccccct ggcccccagc     1920
agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct ctgggctgcc tggtcgagga ctacttcccc     1980
gagccgtga ccgtgtcctg gaacagcgga gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc     2040
gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc     2100
agcctgggca cccagaccta catctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg     2160
gacgagaagg tggagcccaa gagctgcgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca     2220
cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc     2280
atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct     2340
gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg     2400
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag     2460
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc     2520
atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg     2580
cccccatgcc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc     2640
ttctatcccа gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac     2700
aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcctctacag caagctcacc     2760
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct     2820
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtaaatg a              2871
```

<210> 169
<211> 2857
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 169
agagtccggc cctggactgg tggrcccctag ccagagcctg agcatcacct gtaccgtgtc 60
cggcttcagc ctgaccagct acggcgtgtc atgggtgcgc caggcttccag gcaagtgtct 120
ggaatggctg ggcatcatct ggggcgacgg cagcaccaat taccacagcg ccctgatcag 180
cagactgagc atctccaagg acaacagcaa gagccaggtg ttcctgaagc tgaacagcct 240
gcagaccgac gacaccgcca cctactactg cgccaagggc atcaccaccg tggtggacga 300
ctactacgct atggactact ggggccaggg caccagcgtg acagtgtcta gcggaggcgg 360
aggatctggc ggcggaggaa gtggcggagg gggatctggg ggaggcggaa gcgatatcca 420
gatgacccag agccctgcca gcctgtctgc ctctgtgggc gagacagtga ccatcacatg 480
ccgggccagc gagaacatcg acagctacct ggcctggtat cagcagaagc agggcaagag 540
cccccagctg ctggtgtacg ccgccacctt tctggccgac gatgtgccca gcagattcag 600
cggcagcgga agcggcacac agtacagcct gaagatcaac tccctgcaga gcgaggacgt 660
ggcccggtac tactgccagc actactacag cacccccctac acctttcggct gcggcaccaa 720
gctggaaatc aaaggcgggg gaggctccgg aggcggcgga agtggaggcg gcggaagtgg 780
cggaggcgga ggggggggaa gtgggggcgg aggcagtggg ggggggaggat cccaggccgt 840
cgtgacccag gaacccagcc tgacagtgtc tcctggcggc accgtgaccc tgacatgtgg 900
cagttctaca ggcgccgtga ccaccagcaa ctacgccaac tgggtgcagg aaaagcccgg 960
ccaggccttc agaggactga tcggcggcac caacaagaga gcccctggca cccctgccag 1020
attcagcgga tctctgctgg gaggaaaggc cgccctgaca ctgtctggcg cccagccaga 1080
agatgaggcc gagtactact gcgccctgtg gtacagcaac ctgtgggtgt tcggcggagg 1140
caccaagctg acagtgctga gcagcgcttc caccaaggga cccagtgtgt tccccctggc 1200
ccccagctcc aagtctacat ccggtggcac agctgccctg ggatgtctcg tgaaggacta 1260
ctttcctgag cctgtgacag tgtcttggaa cagcggagcc ctgaccagcg gagtgcacac 1320
atttcctgca gtgctgcaga gcagcggcct gtatagcctg agcagcgtcg tgaccgtgcc 1380
ttcctctagc ctgggaacac agacatatat ctgtaatgtg aatcataagc ccagtaatac 1440
caaagtggat aagaaagtgg aacctaagag ctgcgatggc ggaggagggt ctggaggcgg 1500
agggtcccag gtgcaattgg ttcaatctgg tgctgaagta aaaaaaccgg gcgcttccgt 1560
taaagtgagc tgcaaagcat ccggatacac cttcactttcc tattacatgc actgggttcg 1620
tcaagccccg ggccagggtc tggaatggat gggcatcatt aacccaagcg gtggctctac 1680
ctcctacgcg cagaaatttcc agggtcgcgt caccgatgacc catgacacta gcacctctac 1740
cgtttatatg gagctgtcca gcctgcgttc tgaagatact gcagtgtact actgtgcacg 1800
ctctttcttc actggtttcc atctggacta ttggggtcaa ggcaccctcg taacggtttc 1860

ttctgctagc accaagggcc ctccgtgttt ccccctggcc cccagcagca agagcaccag 1920
cggcggcaca gccgctctgg gctgcctggt cgaggactac ttccccgagc ccgtgaccgt 1980
gtcctggaac agcggagccc tgacctccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag 2040
ttctggcctg tatagcctga gcagcgtggt caccgtgccc tctagcagcc tgggcaccca 2100
gacctacatc tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggacg agaaggtgga 2160
gcccaagagc tgcgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagctgcagg 2220
gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac 2280
ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa 2340
ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta 2400
caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg 2460
caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctcggc gcccccatcg agaaaaccat 2520
ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catgcccggga 2580
tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgtg gtgcctggtc aaaggcttct atcccagcga 2640
catgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc 2700
cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag 2760
gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta 2820
cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga 2857

<210> 170
<211> 2025
<212> ДНК
<213> Химерна

<400> 170
caggccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg 60
acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa 120
aagccccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc 180
cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc 240
cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc 300
ggcggaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgcttcca ccaagggacc cagtgtgttc 360
cccctggccc ccagctccaa gtctacatcc ggtggcacag ctgccctggg atgtctcgtg 420
aaggactact ttcctgagcc tgtgacagtg tcttggaaca gcggagccct gaccagcgga 480
gtgcacacat tccctgcagt gctgcagagc agcggcctgt atagcctgag cagcgtcgtg 540
accgtgcctt cctctagcct gggaacacag acatatatct gtaatgtgaa tcataagccc 600
agtaatacca aagtggataa gaaagtggaa cctaagagct gcgatggcgg aggagggtct 660
ggaggcggag ggtcccaggt gcaattggtt caatctggtg ctgaagtaaa aaaacggggc 720
gcttccgtta aagtgagctg caaagcatcc ggatacacct tcacttccta ttacatgcac 780
tgggttcgtc aagccccggg ccagggtctg gaatggatgg gcatcattaa cccaagcggt 840

```
ggctctacct cctacgcgca gaaattccag ggtcgcgtca cgatgaccca tgacactagc      900
acctctaccg tttatatgga gctgtccagc ctgcgttctg aagatactgc agtgtactac      960
tgtgcacgct ctttcttcac tggtttccat ctggactatt ggggtcaagg caccctcgta     1020
acggtttctt ctgctagcac caagggcccc tccgtgttcc ccctggcccc cagcagcaag     1080
agcaccagcg gcggcacagc cgctctgggc tgcctggtcg aggactactt ccccgagccc     1140
gtgaccgtgt cctggaacag cggagccctg acctccggcg tgcacacctt ccccgccgtg     1200
ctgcagagtt ctggcctgta tagcctgagc agcgtggtca ccgtgccttc tagcagcctg     1260
ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacgag     1320
aaggtggagc ccaagagctg cgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa     1380
gctgcagggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc     1440
tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc     1500
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag     1560
gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg     1620
ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcggcgc ccccatcgag     1680
aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca     1740
tgcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctggtca aggcttctat     1800
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc     1860
acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac     1920
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac     1980
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga                     2025
```

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, яка містить:
(а) перший антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3;
(б) другий антигензв'язуючий фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені; і
(в) маскуючий фрагмент, ковалентно приєднаний до біспецифічної молекули, що зв'язує Т-клітини, через розщеплюваний протеазою лінкер, де маскуючий фрагмент являє собою антиідіотиповий scFv і має здатність специфічно зв'язуватись з ідіотипом першого або другого антигензв'язуючого фрагмента, тим самим оборотно приховуючи перший або другий антигензв'язуючий фрагмент.

2. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за п. 1, в якій маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до першого антигензв'язуючого фрагмента і оборотно приховує перший антигензв'язуючий фрагмент.

3. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за п. 1 або 2, в якій маскуючий фрагмент ковалентно приєднаний до варіабельної ділянки важкого ланцюга першого антигензв'язуючого фрагмента.

4. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-3, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент являє собою канонічну молекулу Fab.

5. Активована протеазою біспецифічна молекула, яка активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-4, що містить не більше одного антигензв'язуючого фрагмента, який має здатність специфічно зв'язуватись з CD3.

6. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-5, яка містить третій антигензв'язуючий фрагмент, що являє собою молекулу Fab, яка має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені.

7. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за п. 6, в якій третій антигензв'язуючий фрагмент ідентичний другому антигензв'язуючому фрагменту.

8. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-7, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з антигеном клітини-мішені, вибраним з групи, яка складається з FolR1, HER1 і мезотеліну.

9. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-8, в якій перший і другий антигензв'язуючі фрагменти злиті один з одним необов'язково через пептидний лінкер.

10. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-9, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язуючого фрагмента.

11. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-9, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab другого антигензв'язуючого фрагмента.

12. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-11, яка додатково містить Fc-домен, який складається з першої і другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації.

13. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за п. 12, в якій Fc-домен являє собою Fc-домен IgG, зокрема IgG1 або IgG4.

14. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за п. 12 або 13, в якій Fc-домен характеризується зниженою афінністю зв'язування з Fc-рецептором і/або зниженою ефекторною функцією порівняно з нативним Fc-доменом IgG1.

15. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-14, в якій маскуючий фрагмент містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS (SEQ ID NO: 26);

(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27);

(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28);

і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);

(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і

(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

16. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-15, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить принаймні одну розпізнавану протеазою послідовність.

17. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за п. 16, в якій лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36);

18. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-17, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 TYAMN (SEQ ID NO: 44);

б) амінокислотну послідовність CDR H2 RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO: 45); і

в) амінокислотну послідовність CDR H3 HGNFGNSYVSWFAY 5 (SEQ ID NO: 46);

і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:

г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 17);

д) амінокислотну послідовність CDR L2 GTNKRAP (SEQ ID NO: 18); і

е) амінокислотну послідовність CDR L3 ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 19).

19. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-18, в якій перший антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з CD3 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55.

20. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-19, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з FolR1 і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:

а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 NAWMS (SEQ ID NO: 14);
б) амінокислотну послідовність CDR H2 RIKSKTDGGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO: 15); і
в) амінокислотну послідовність CDR H3 PWEWSWYDY (SEQ ID NO: 16);
і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:
г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 17);
д) амінокислотну послідовність CDR L2 GTNKRAP (SEQ ID NO: 18); і
е) амінокислотну послідовність CDR L3 ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 19).

21. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-19, в якій другий антигензв'язуючий фрагмент має здатність специфічно зв'язуватись з мезотеліном і містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:
а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки 5 важкого ланцюга (CDR H) 1 GYTMN (SEQ ID NO: 107);
б) амінокислотну послідовність CDR H2 LITPYNGASSYNQKFRG (SEQ ID NO: 108); і
в) амінокислотну послідовність CDR H3 GGYDGRGFDY (SEQ ID NO: 109);
і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:
г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 SASSSVSYMH (SEQ ID NO: 110);
д) амінокислотну послідовність CDR L2 DTSKLAS (SEQ ID NO: 111); і
е) амінокислотну послідовність CDR L3 QQWSKHPLT (SEQ ID NO: 112).

22. Ідіотипспецифічний поліпептид, призначений для оборотного приховування анти-CD3 антигензв'язуючого сайта молекули, який являє собою антиідіотиповий scFv, ковалентно приєднаний до молекули через пептидний лінкер, який розщеплений протеазою і містить принаймні один сайт, який розпізнається протеазою, де лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність, вибрану із групи, яка включає SEQ ID NO: 36-40, 97-101 та 103-106.

23. Ідіотипспецифічний поліпептид за п. 22, де лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 36).

24. Ідіотипспецифічний поліпептид за п. 22, де лінкер, розщеплений протеазою, містить розпізнавану протеазою послідовність RQARVVNG (SEQ ID NO: 106).

25. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із пп. 22-24, де молекула являє собою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини.

26. Ідіотипспецифічний поліпептид за будь-яким із пп. 22-25, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, що містить:
(а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки важкого ланцюга (CDR H) 1 SYGVS 5 (SEQ ID NO: 26);
(б) амінокислотну послідовність CDR H2 IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO: 27);
(в) амінокислотну послідовність CDR H3 GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO: 28);
і варіабельну ділянку легкого ланцюга, що містить:
(г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки легкого ланцюга (CDR L) 1 RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 29);
(д) амінокислотну послідовність CDR L2 AATFLAD (SEQ ID NO: 30); і
(е) амінокислотну послідовність CDR L3 QHYYSTPYT (SEQ ID NO: 31).

27. Фармацевтична композиція, що містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-21 і фармацевтично прийнятний носій.

28. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-21, призначена для застосування в фармацевтичній композиції.

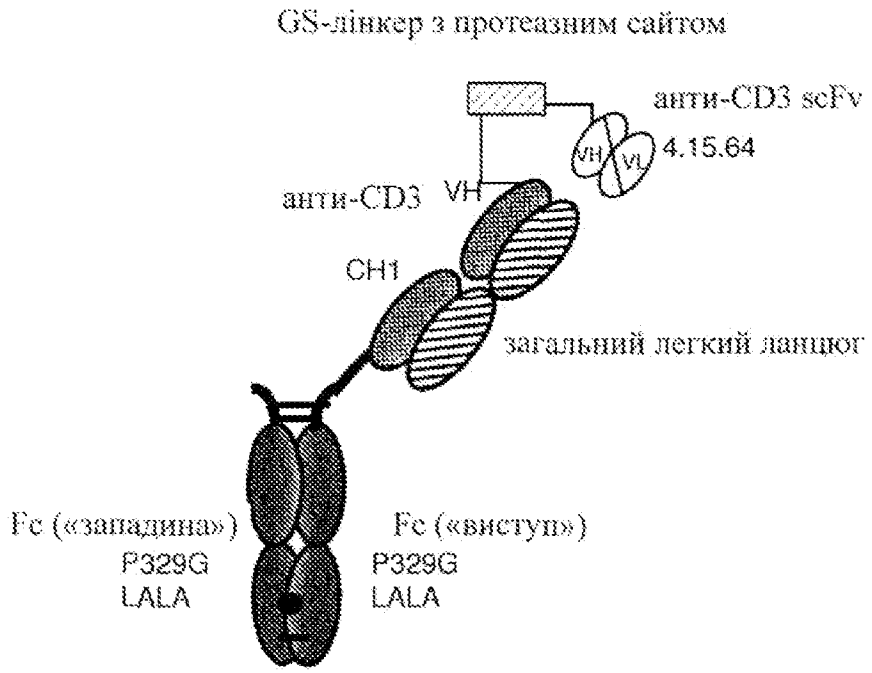
29. Активована протеазою біспецифічна молекула, що активує Т-клітини, призначена для застосування за п. 28, де фармацевтична композиція призначена для лікування або уповільнення розвитку раку в індивідуума.

30. Застосування активованої протеазою біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-21 для приготування лікарського засобу.

31. Застосування за п. 30, в якому захворювання являє собою рак.

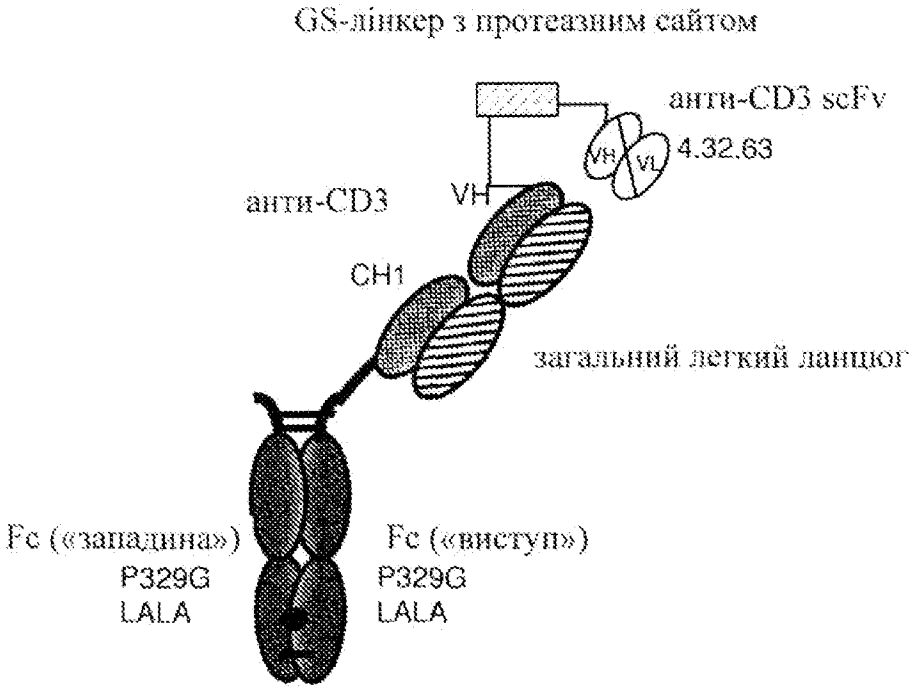
32. Спосіб лікування захворювання в індивідуума, що включає введення зазначеному індивідууму в терапевтично ефективній кількості композиції, яка містить активовану протеазою біспецифічну молекулу, що активує Т-клітини, за будь-яким із пп. 1-21.

33. Спосіб за п. 32, призначений для лікування або уповільнення розвитку раку в індивідуума.



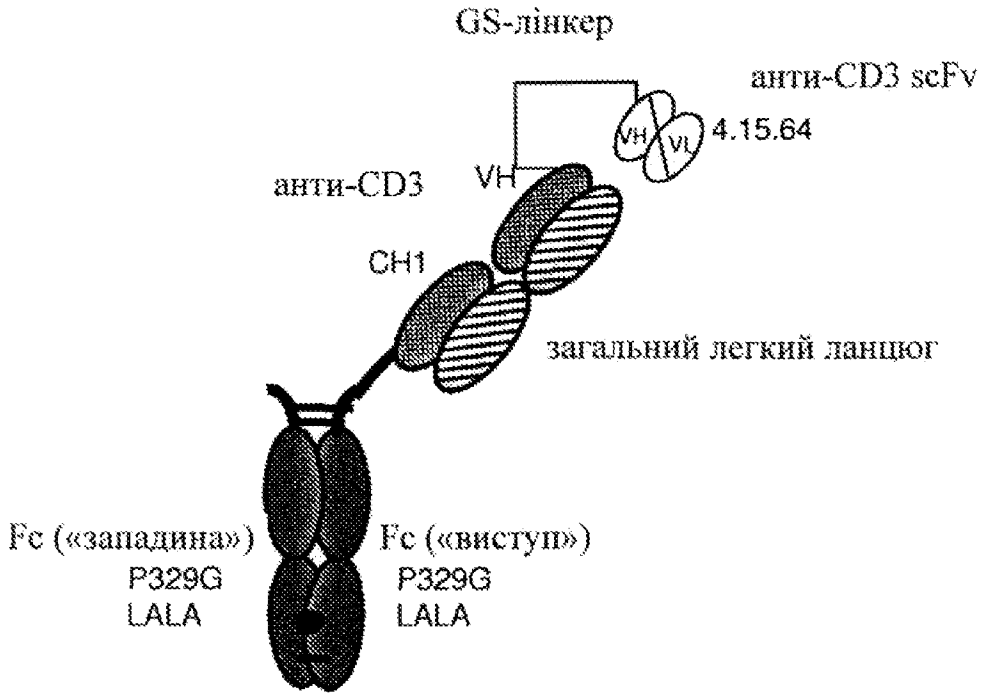
7859

Фіг. 1А



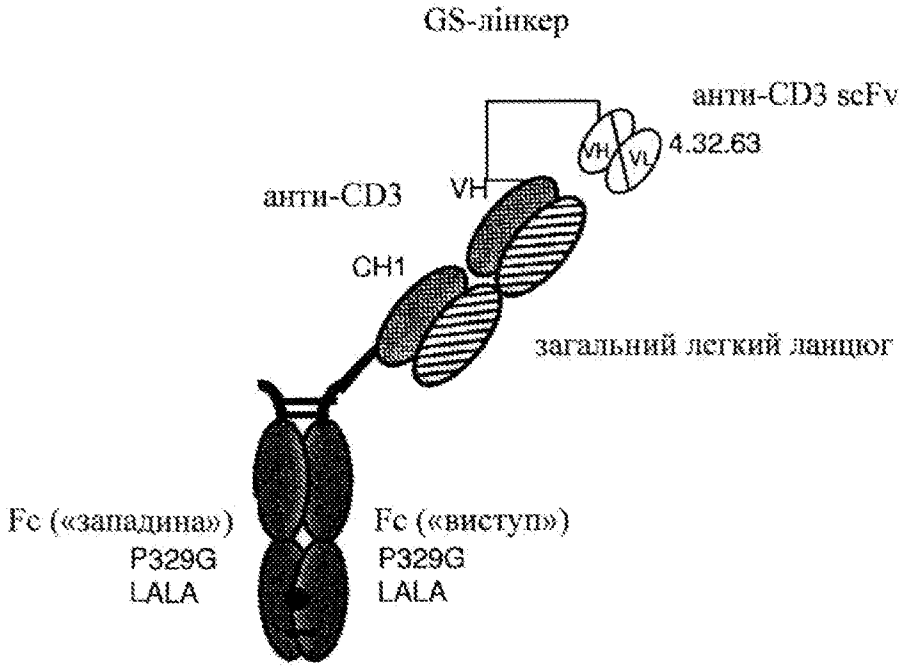
7860

Фіг. 1Б



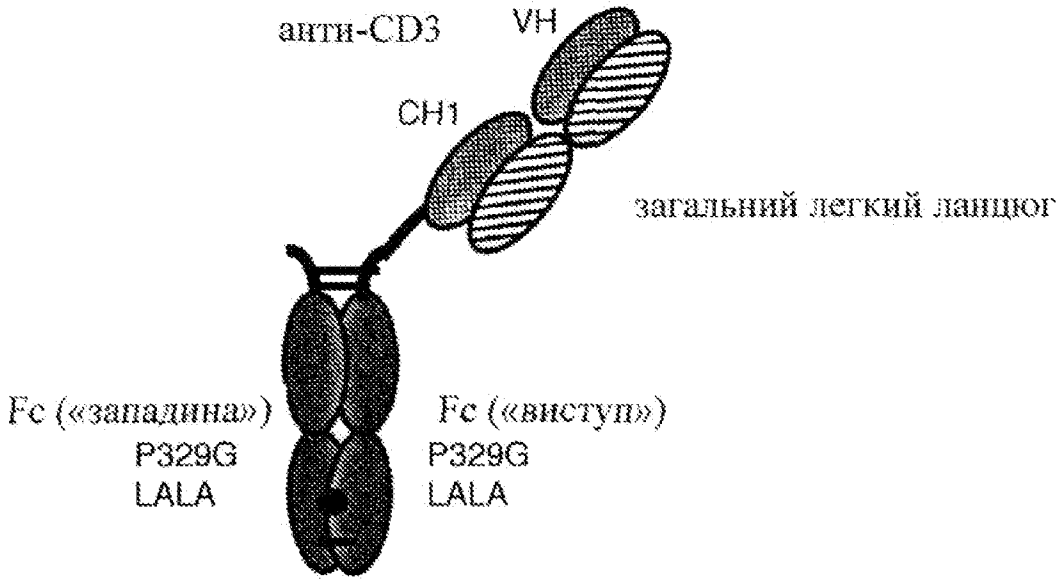
7857

Фіг. 1В



7858

Фіг. 1Г

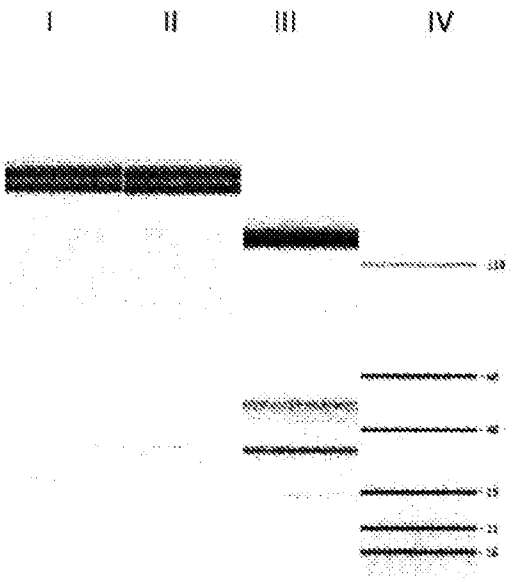


7861

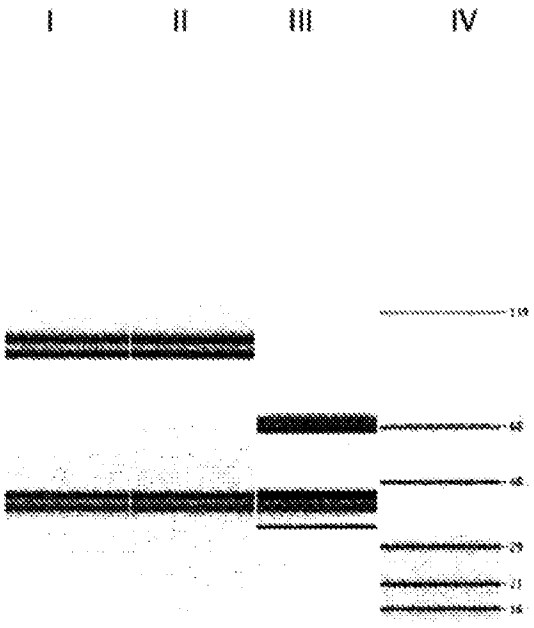
Фіг. 1Д

Клон ID	Ізотип	Темп.	K_a (1/Мс)	K_d (1/с)	$t_{1/2}$ дис. (хв)	K_D (нМ)
4.32.03	IgG1, каппа	25°C	1.96E+05	1.05E-04	110	1
		37°C	3.46E+05	6.52E-04	18	2
4.35.77	IgG1, каппа	25°C	1.66E+05	2.09E-04	55	1
		37°C	2.66E+05	6.96E-04	17	3
4.33.88	IgG2b, каппа	25°C	2.71E+05	1.87E-03	6	7
		37°C	4.26E+05	3.24E-03	4	8
4.24.72	IgG1, каппа	25°C	8.72E+04	1.18E-03	10	14
		37°C	1.55E+05	4.45E-03	3	29
4.21.78	IgG1, каппа	25°C	1.31E+05	3.06E-03	4	23
		37°C	4.25E+05	9.28E-03	1	22
4.15.66	IgG2b, каппа	25°C	2.61E+04	2.50E-03	5	96
		37°C	1.44E+05	1.35E-02	1	94

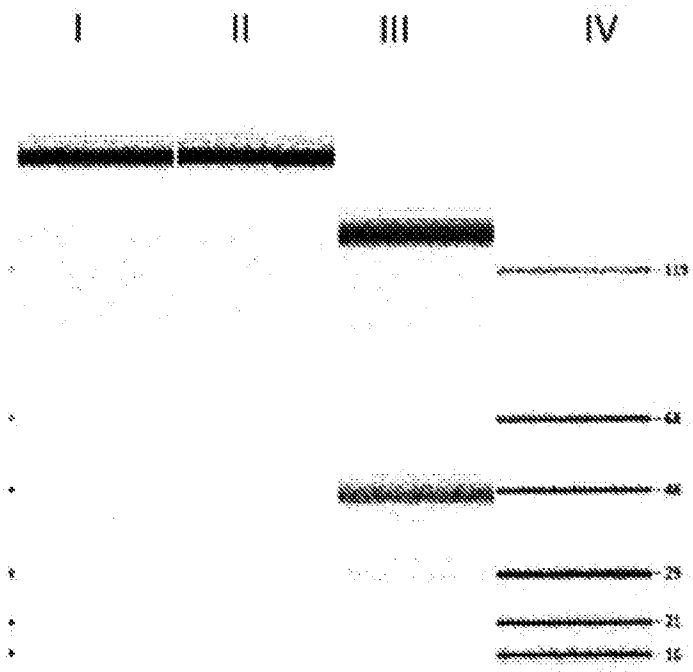
Фіг. 2



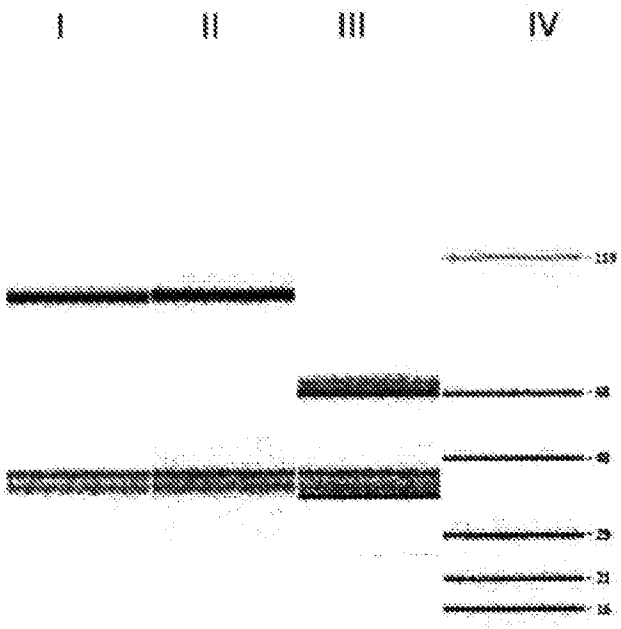
Фіг. 3А



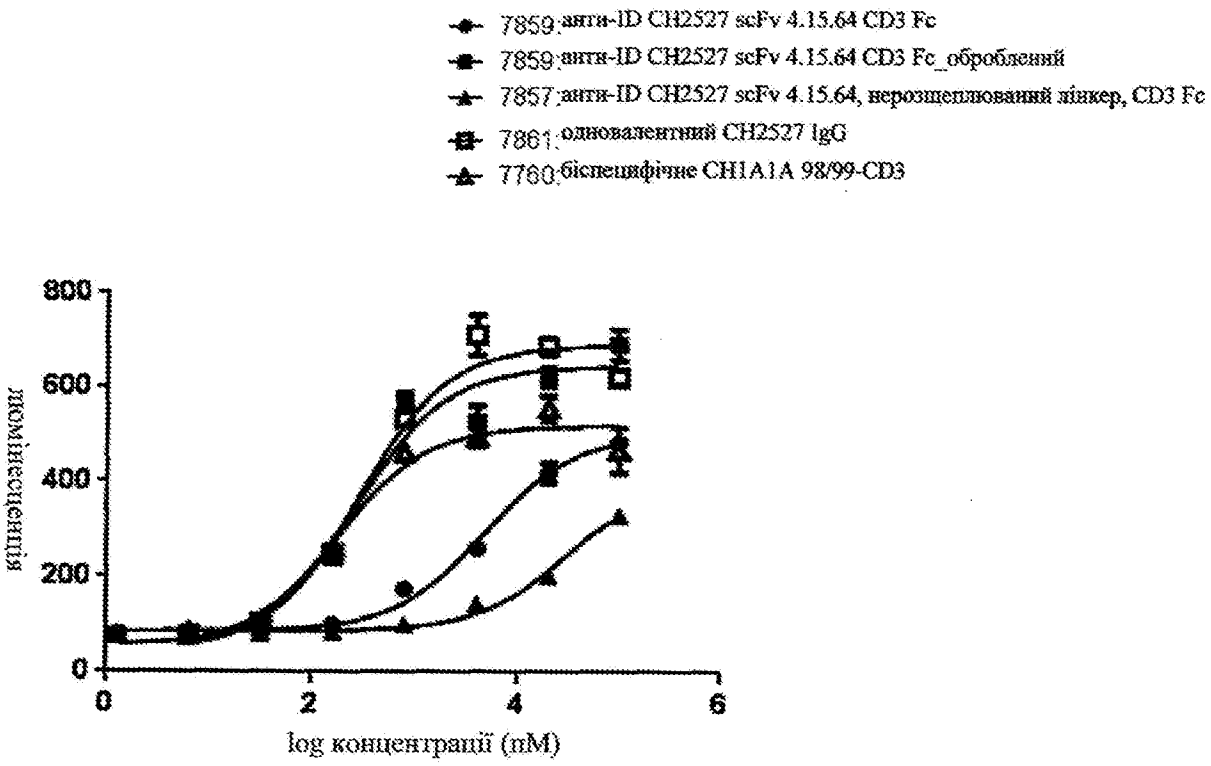
Фіг. 3Б



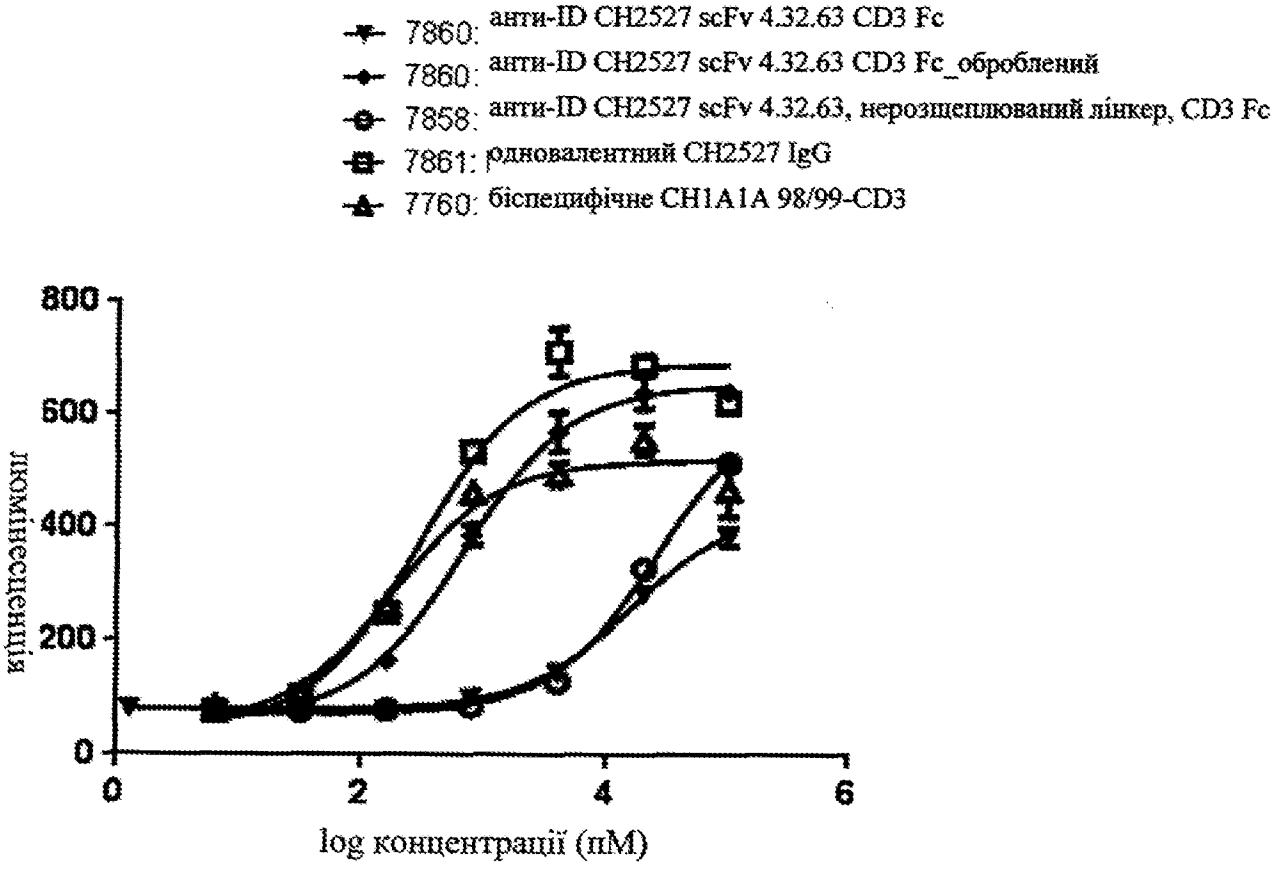
Фіг. 3В



Фіг. 3Г


7859: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 CD3 Fc
7859: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 CD3 Fc_оброблений
7857: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, нерозщеплюваний лінкер, CD3 Fc
7861: одновалентний CH2527 IgG
7760: біспецифічне CH1A1A 98/99-CD3
800
600
400
200
0
люмінесценція
0
2
4
6
log концентрації (пМ)

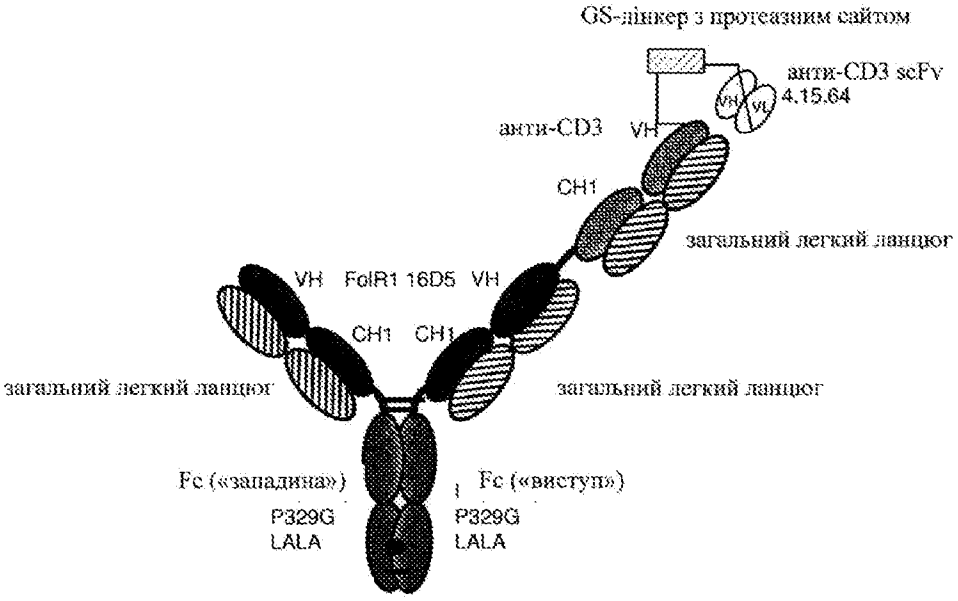
Фіг. 4А


7860: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 CD3 Fc
7860: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 CD3 Fc_оброблений
7858: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, CD3 Fc
7861: одновалентний CH2527 IgG
7760: біспецифічне CH1A1A 98/99-CD3
800
600
400
200
0
люмінесценція
0
2
4
6
log концентрації (пМ)

Фіг. 4Б

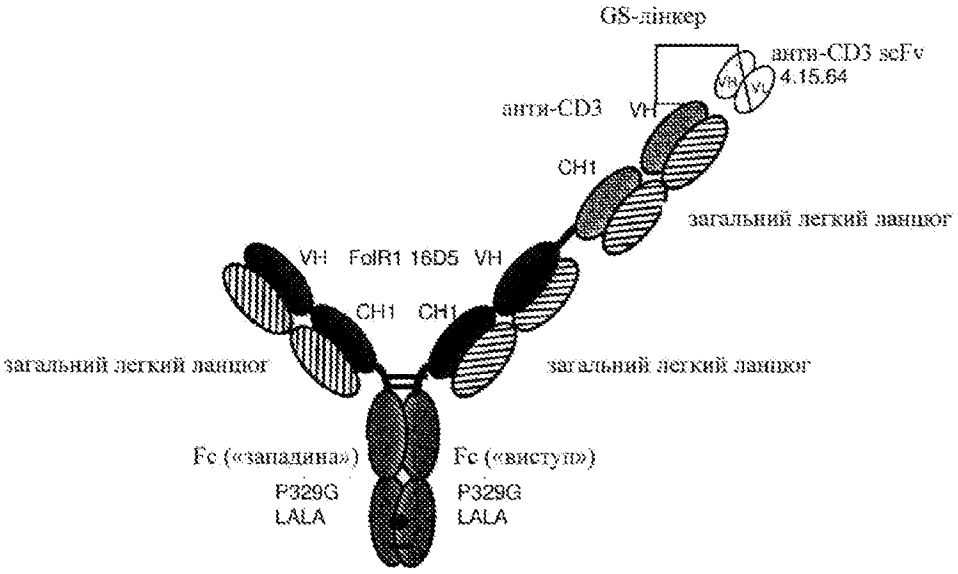
EC50		
7859 scFv 4.15.64 MK062, протеазний сайт		в 16 разів більше, ніж для 7861
[illegible]	[illegible]	в 16 разів менше, ніж для 7859
7860 scFv 4..32.63 MK062, протеазний сайт		в 54 рази більше, ніж для 7861
[illegible]	[illegible]	в 54 рази менше, ніж для 7860

Фіг. 4B



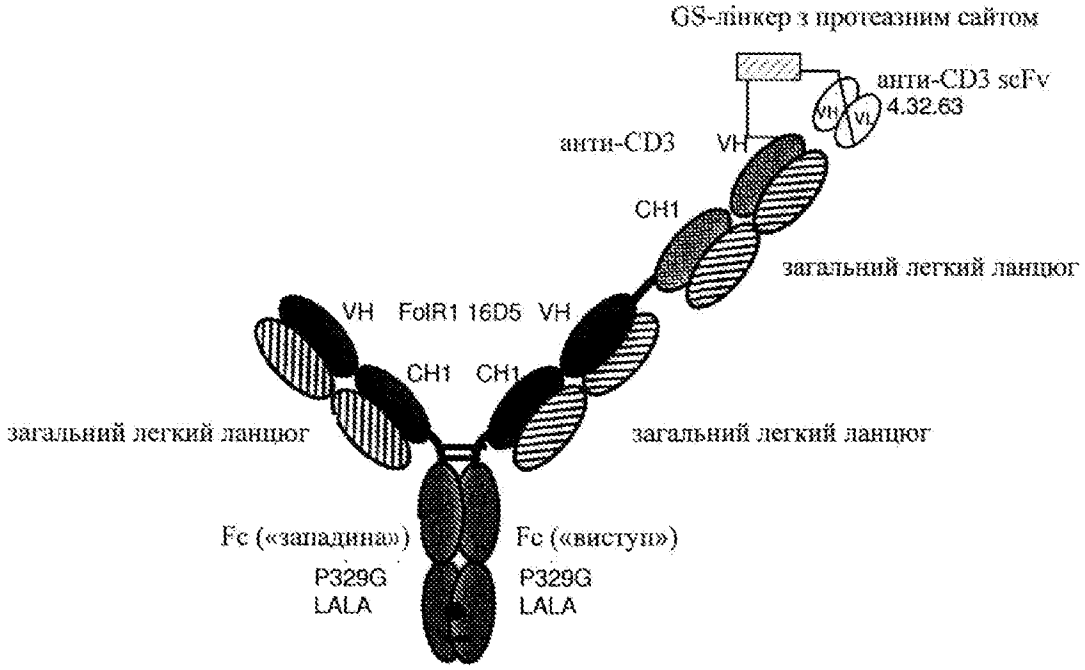
7344

Фіг. 5A



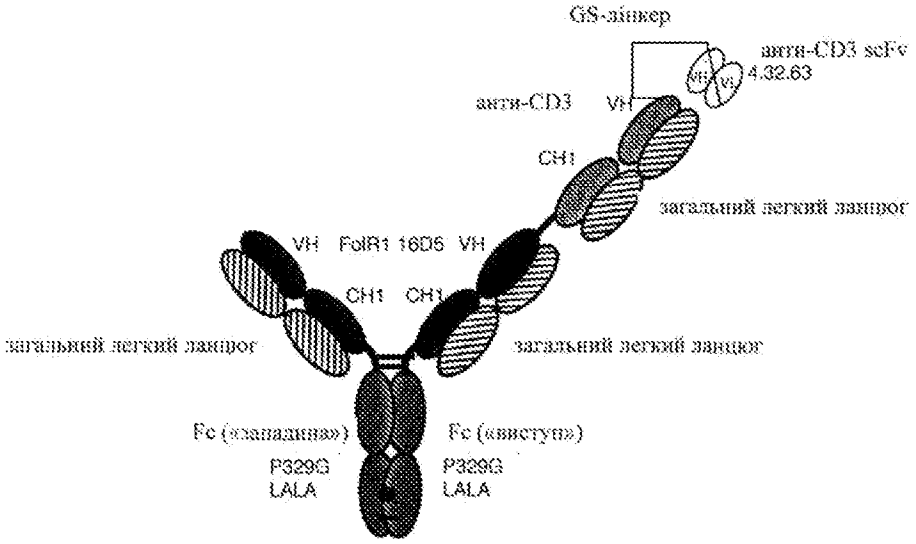
7676

Фіг. 5Б



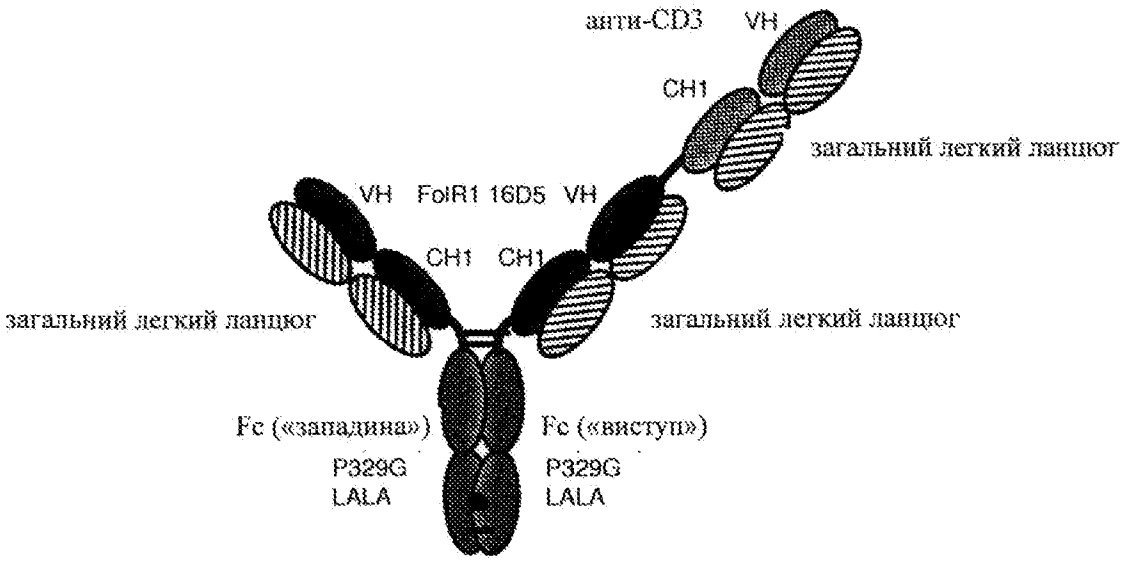
7496

Фіг. 5В



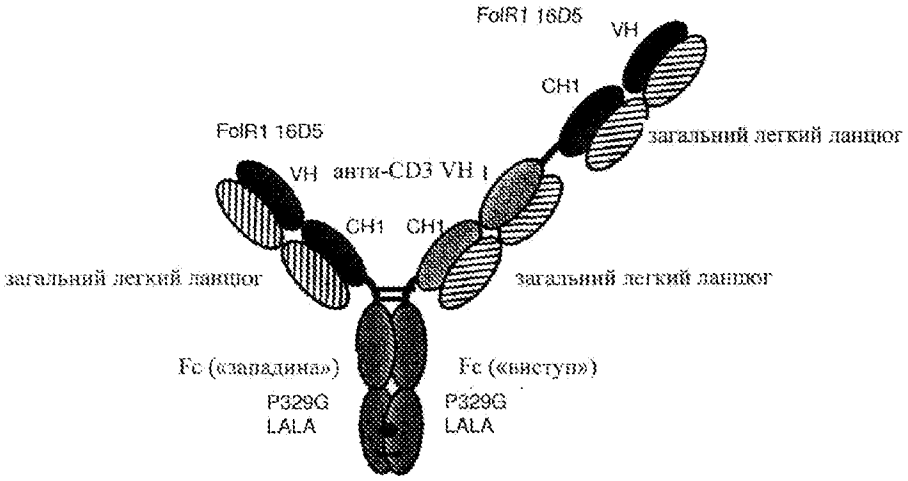
7611

Фіг. 5Г



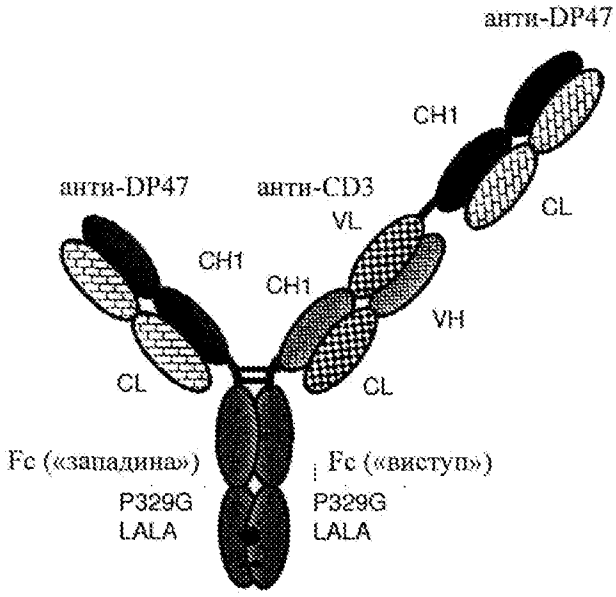
6298

Фіг. 5Д



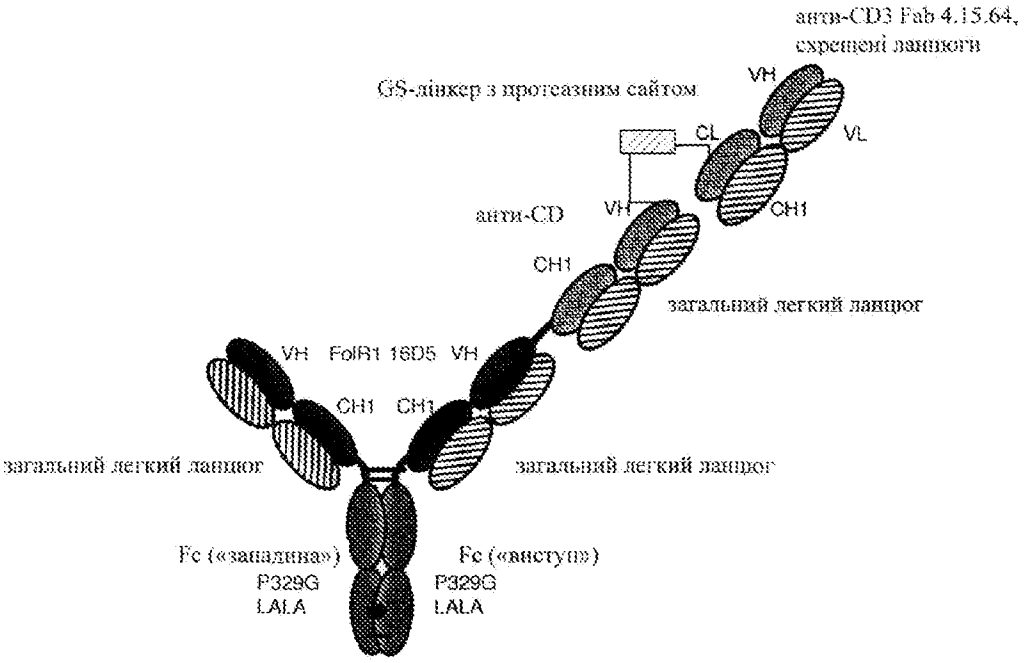
6100

Фіг. 5Е



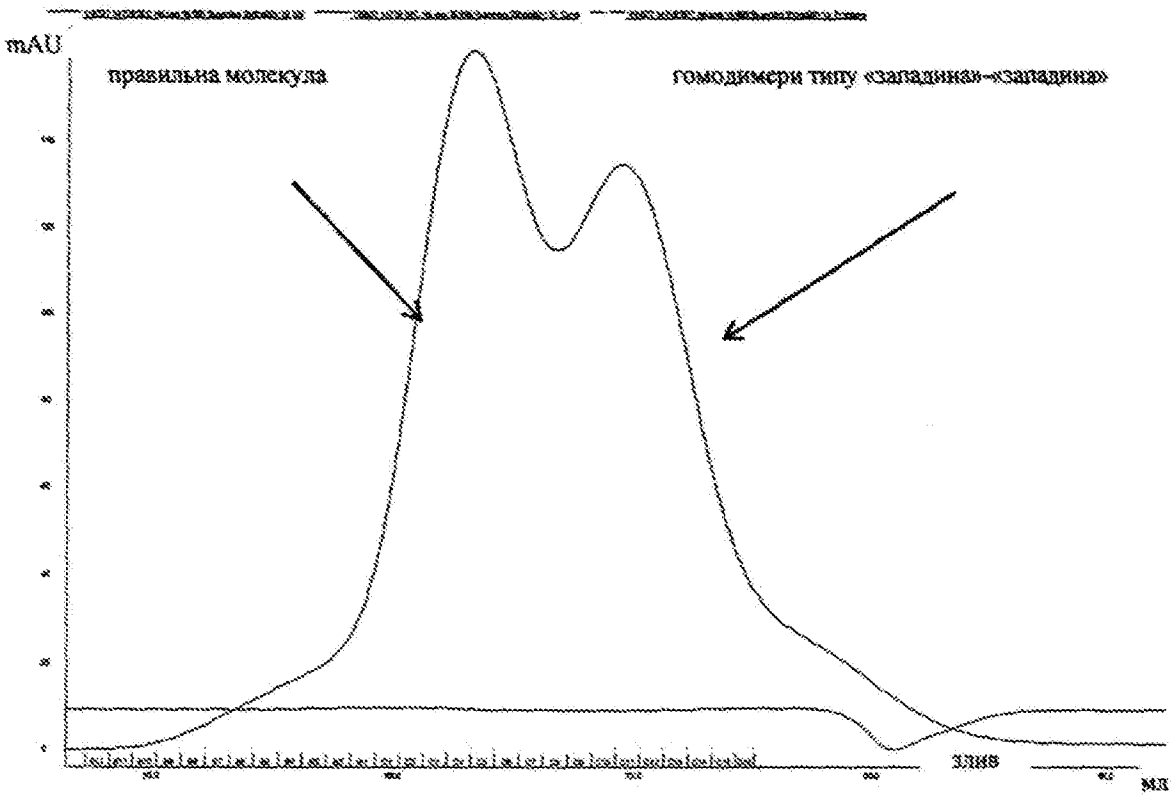
6182

Фіг. 5Ж

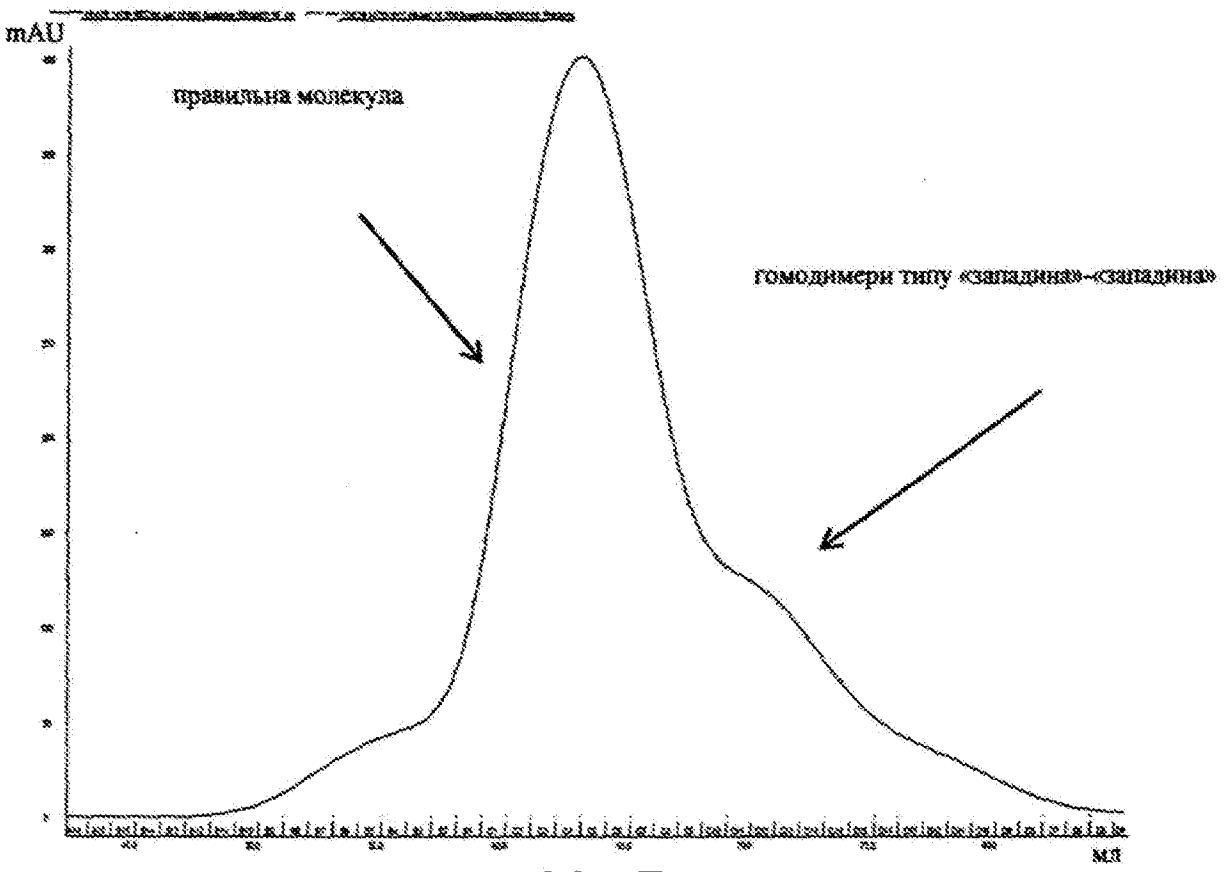


7494

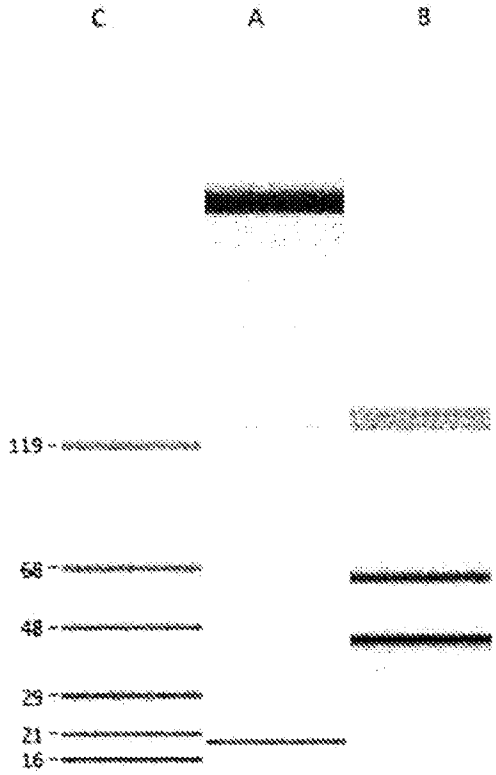
Фіг. 53



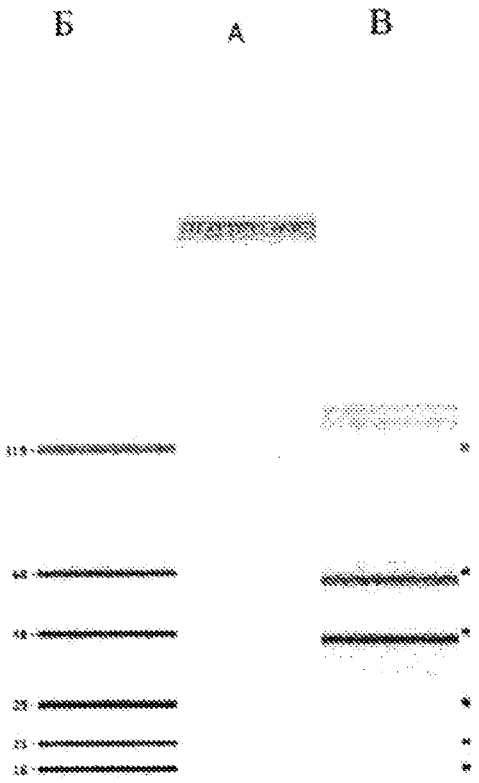
Фіг. 6


mAU
правильна молекула
гомодимери типу «западина»-«западина»
мл

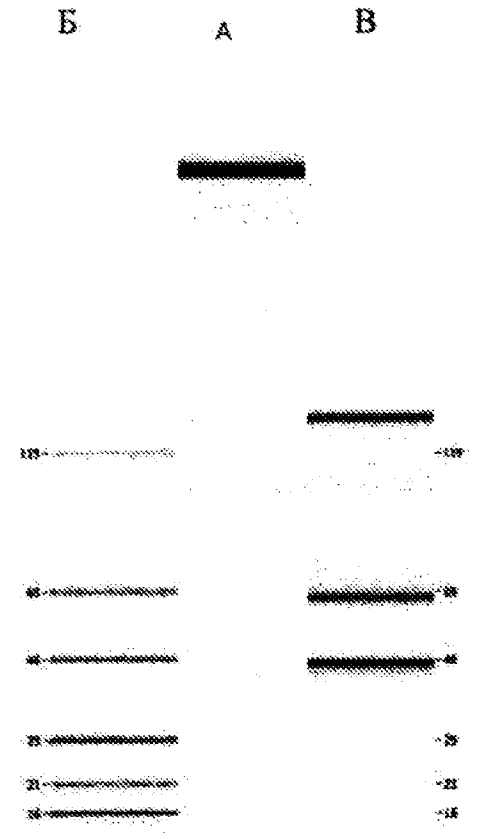
Фіг. 7


C
A
B
119
66
48
29
21
16

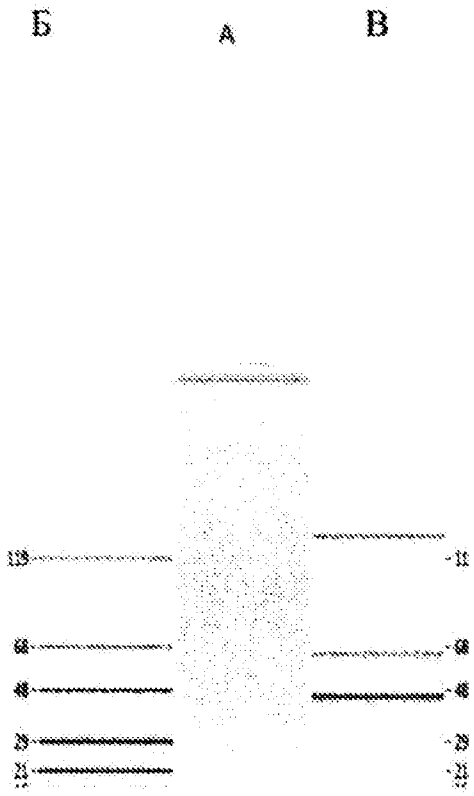
Фіг. 8



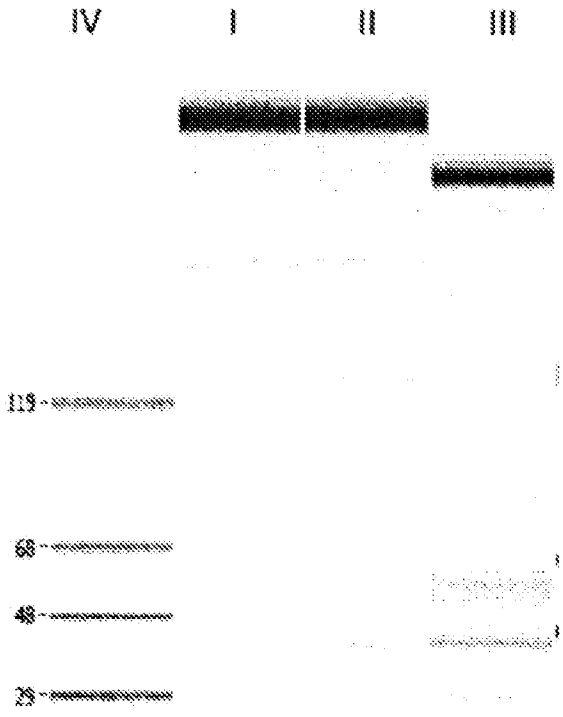
Фіг. 9



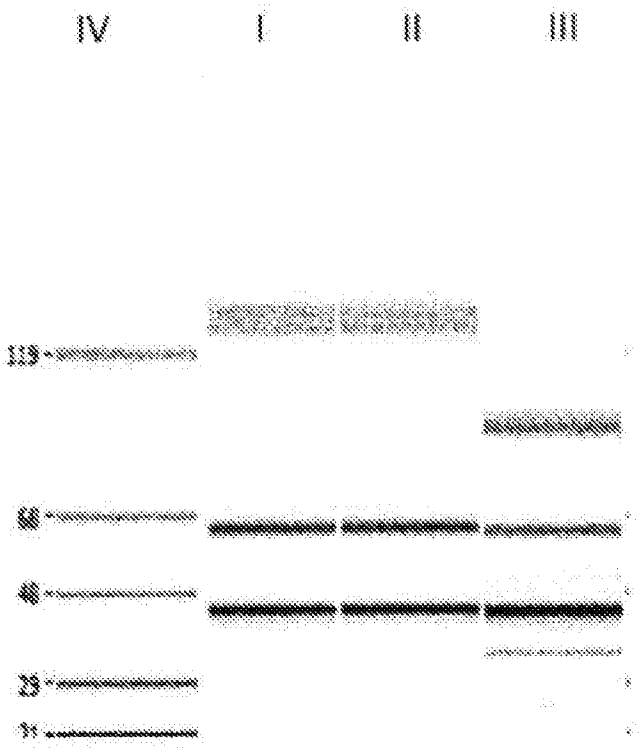
Фіг. 10



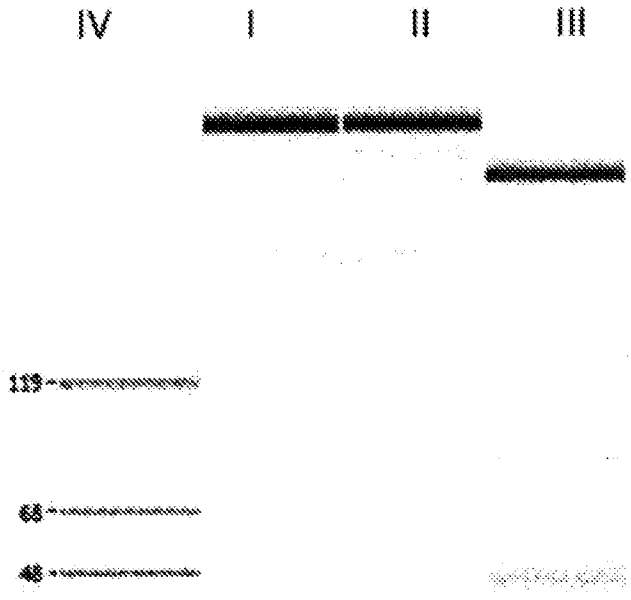
Фіг. 11



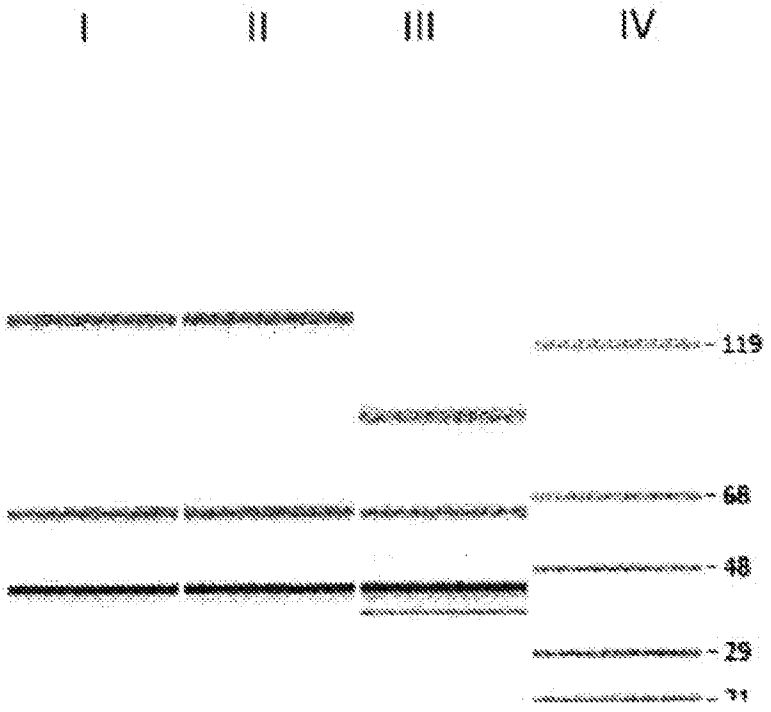
Фіг. 12А



Фіг. 12Б



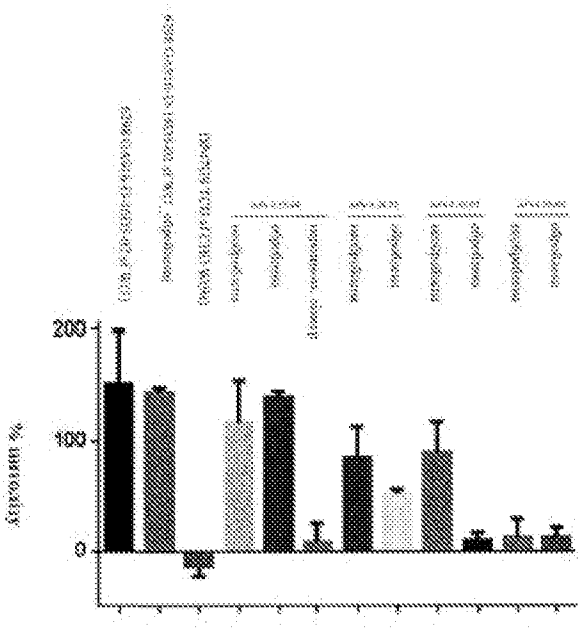
Фіг. 12В



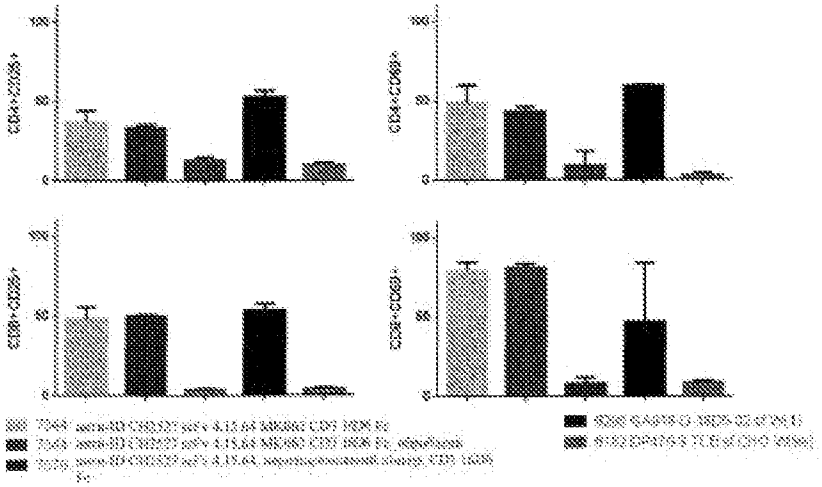
Фіг. 12Г

Людські лінії клітин	Густина FolR1
Hela	2'240'716
Skov3	91'510
HT29	10'135
MKN45	54
Епітеліальні клітини кіркової речовини нирки людини	312

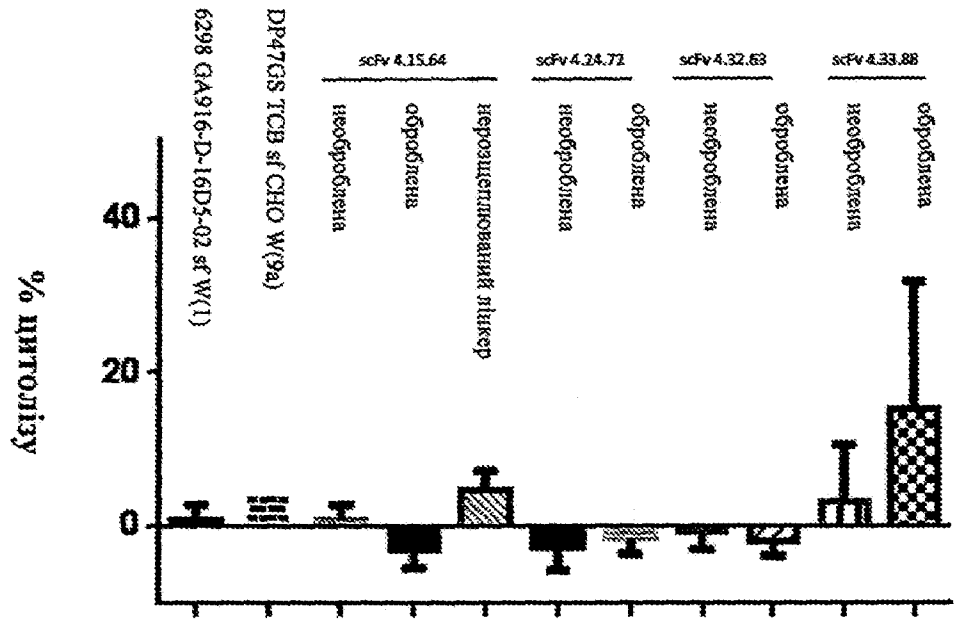
Фіг. 13



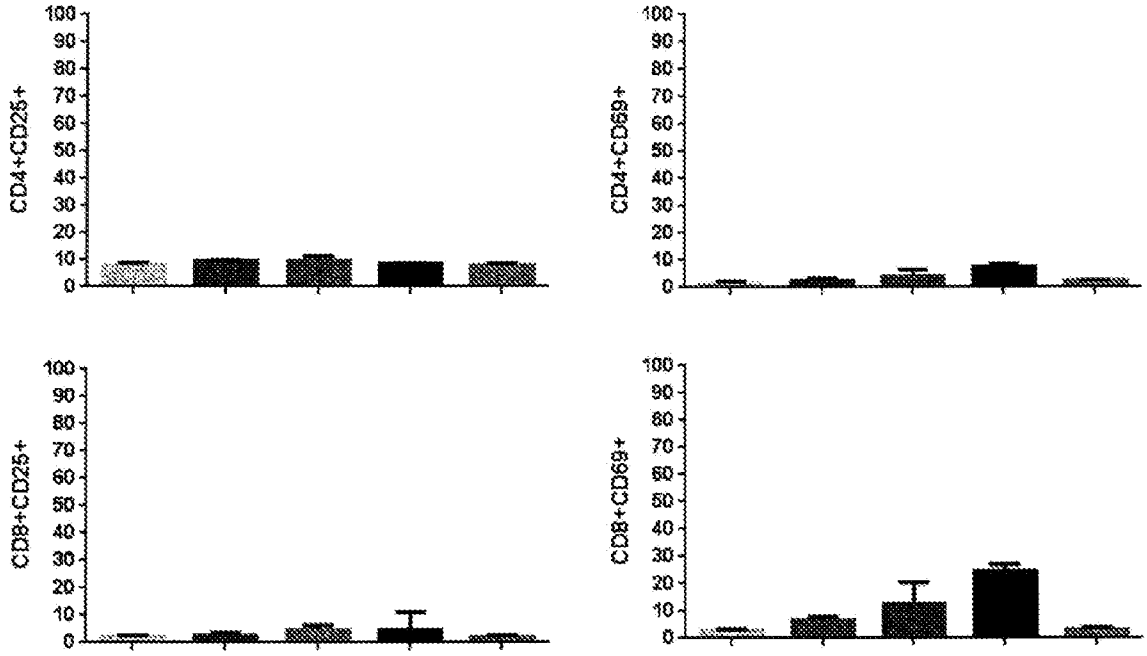
Фіг. 14А



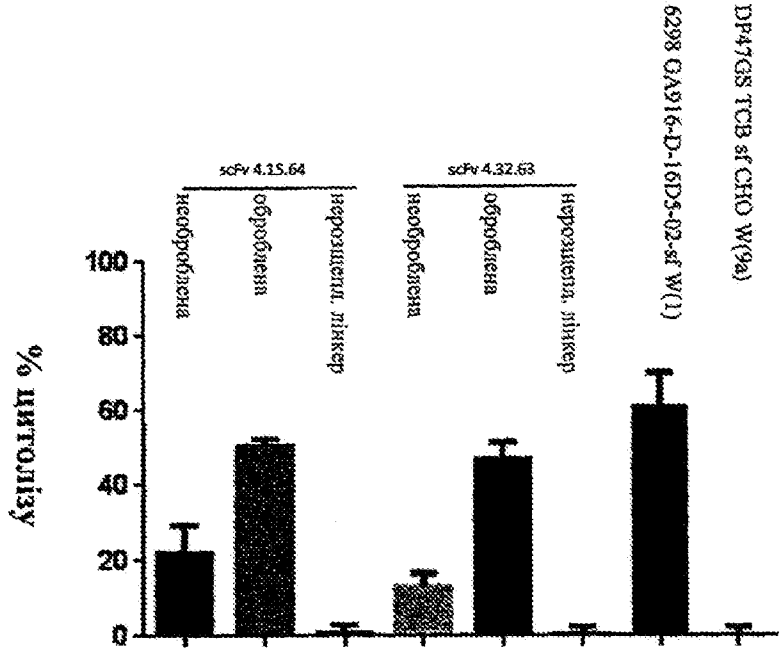
Фіг. 14Б



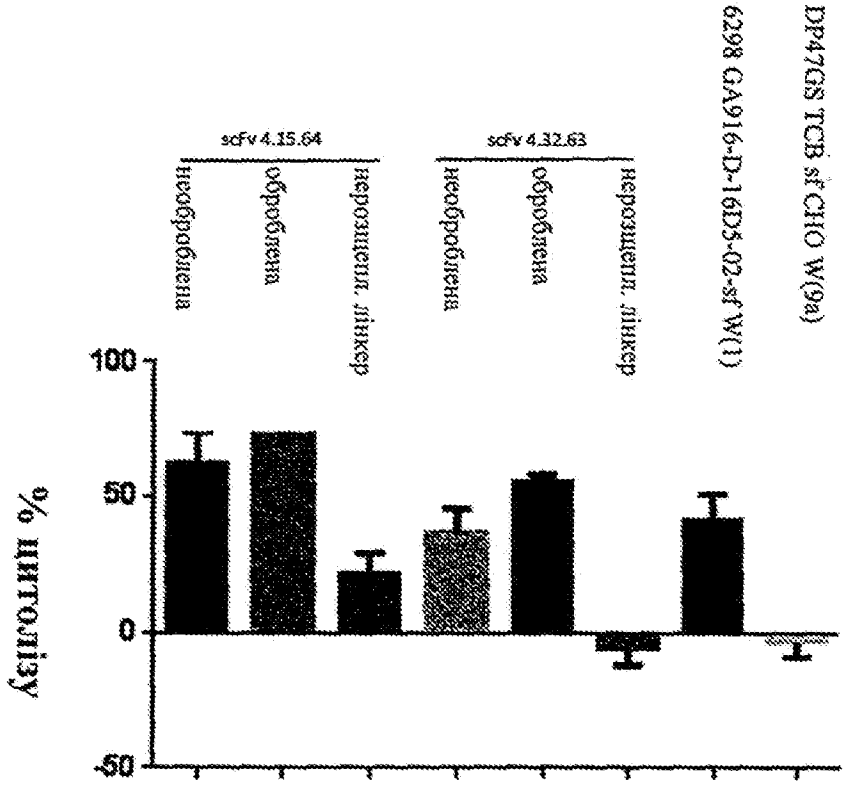
Фіг. 15А



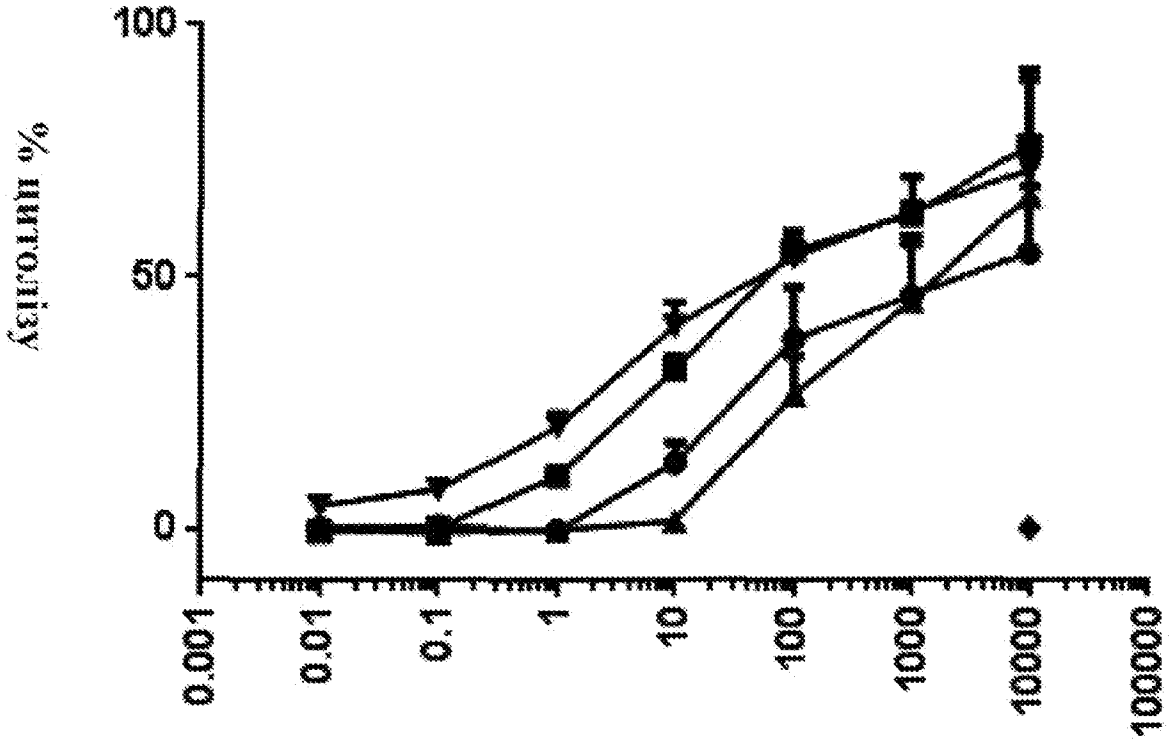
Фіг. 15Б


% цитолізу
100
80
60
40
20
0
scFv 4.15.64
scFv 4.32.63
необроблена
оброблена
нерозщепл. лінкер
необроблена
оброблена
нерозщепл. лінкер
6298 GA916-D-16D5-02-sf W(1)
DP47GS TCB sf CHO W(9a)

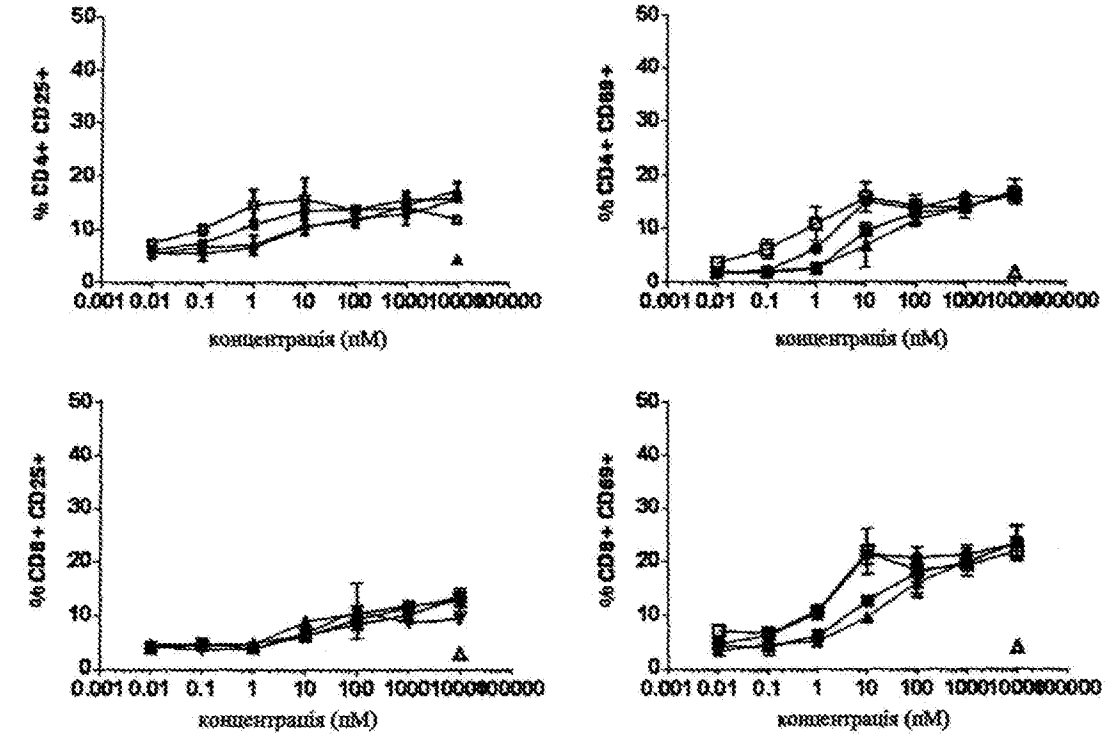
Фіг. 16


% цитолізу
100
50
0
-50
scFv 4.15.64
scFv 4.32.63
необроблена
оброблена
нерозщепл. лінкер
необроблена
оброблена
нерозщепл. лінкер
6298 GA916-D-16D5-02-sf W(1)
DP47GS TCB sf CHO W(9a)

Фіг. 17

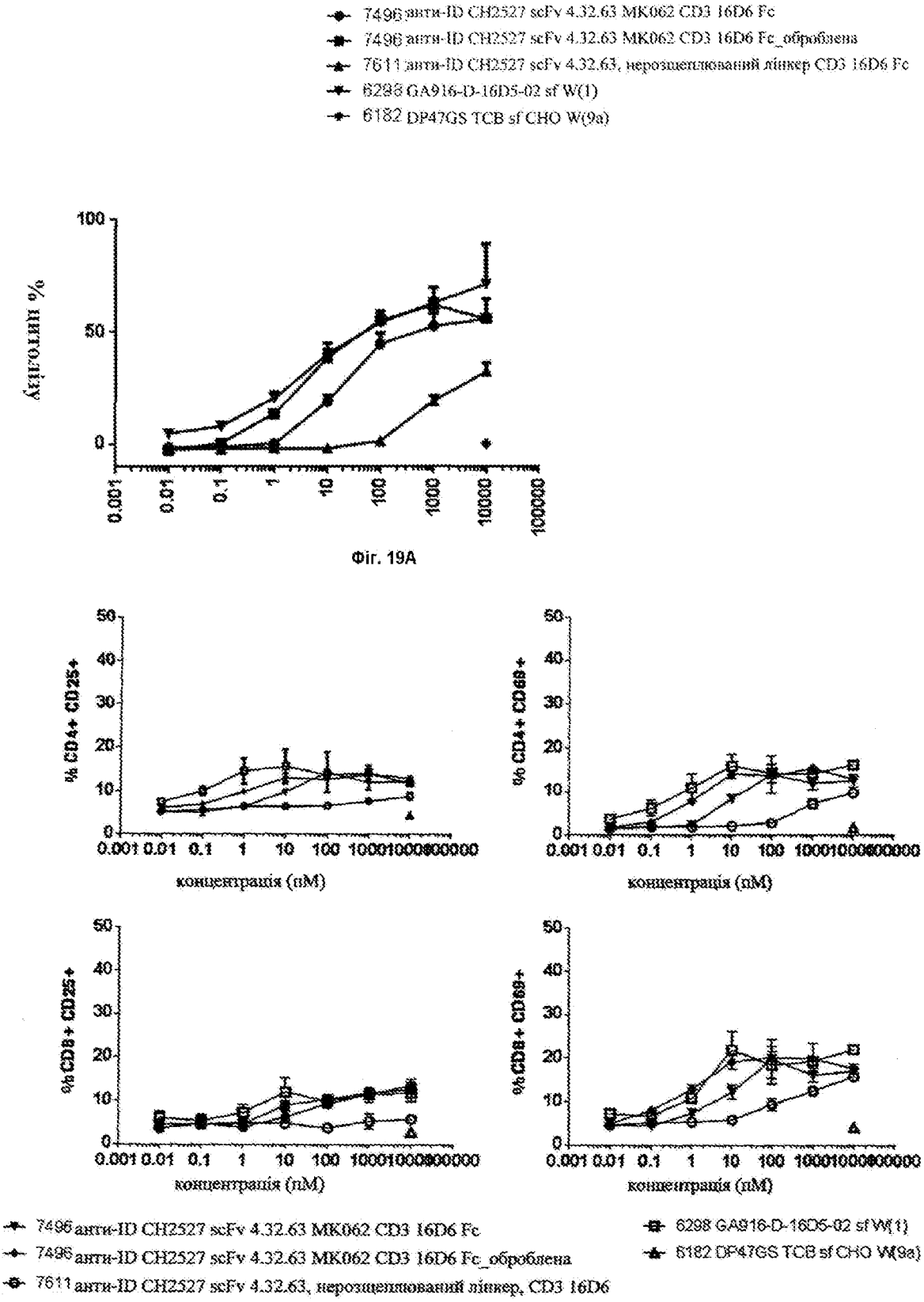


Фіг. 18А



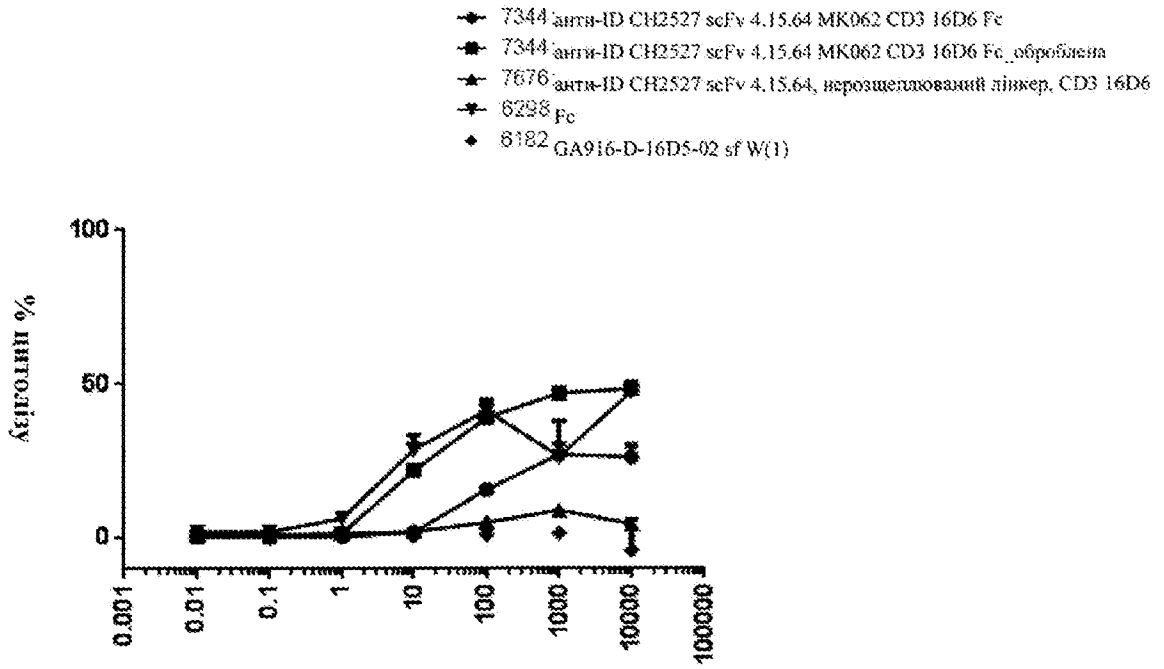
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D5 Fc
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D5 Fc_обробляна
7576: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, неопосередкований лінкер, CD3 16D5 Fc
6298 GA016-D-16D5-02 sf VH(1)
6182 DP47GS TCB sf CHO W(9a)

Фіг.18Б

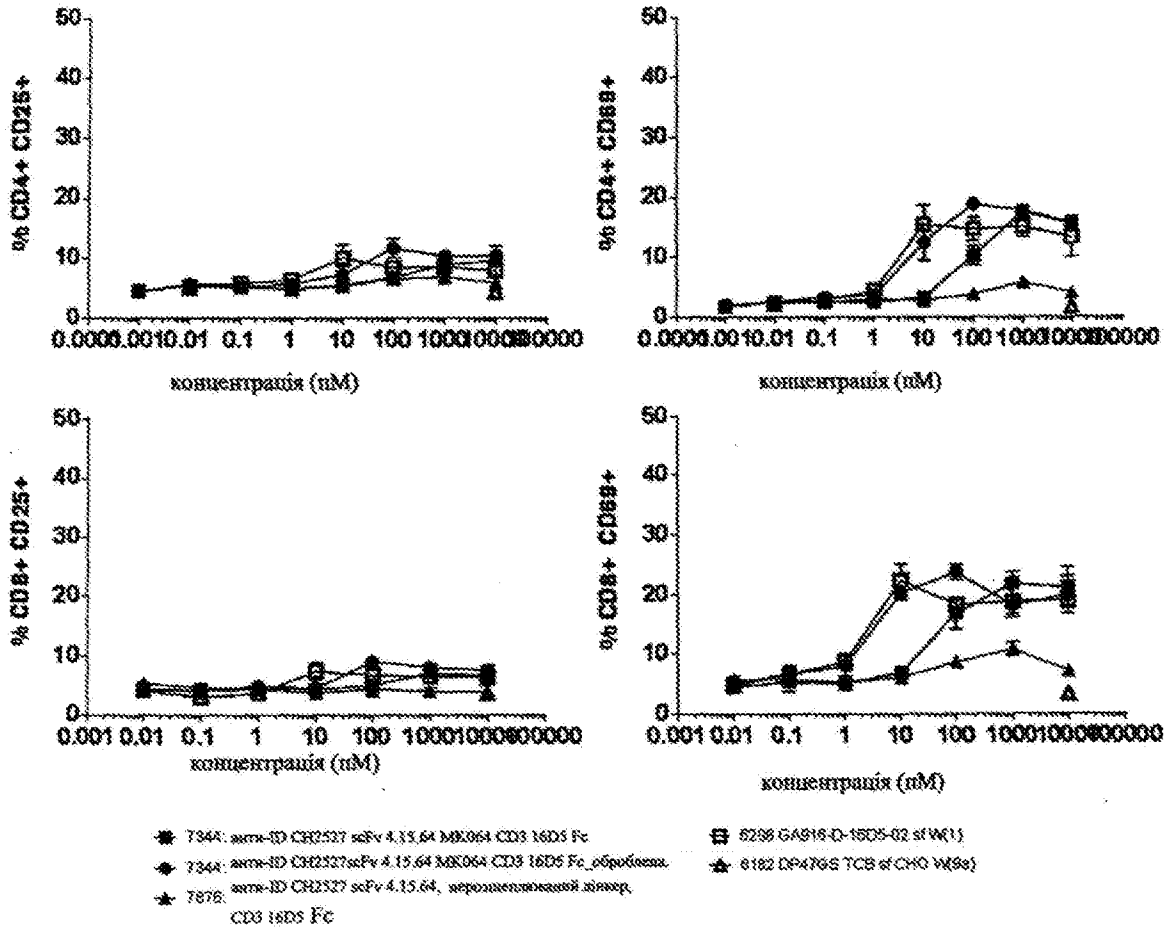


Фіг. 19А

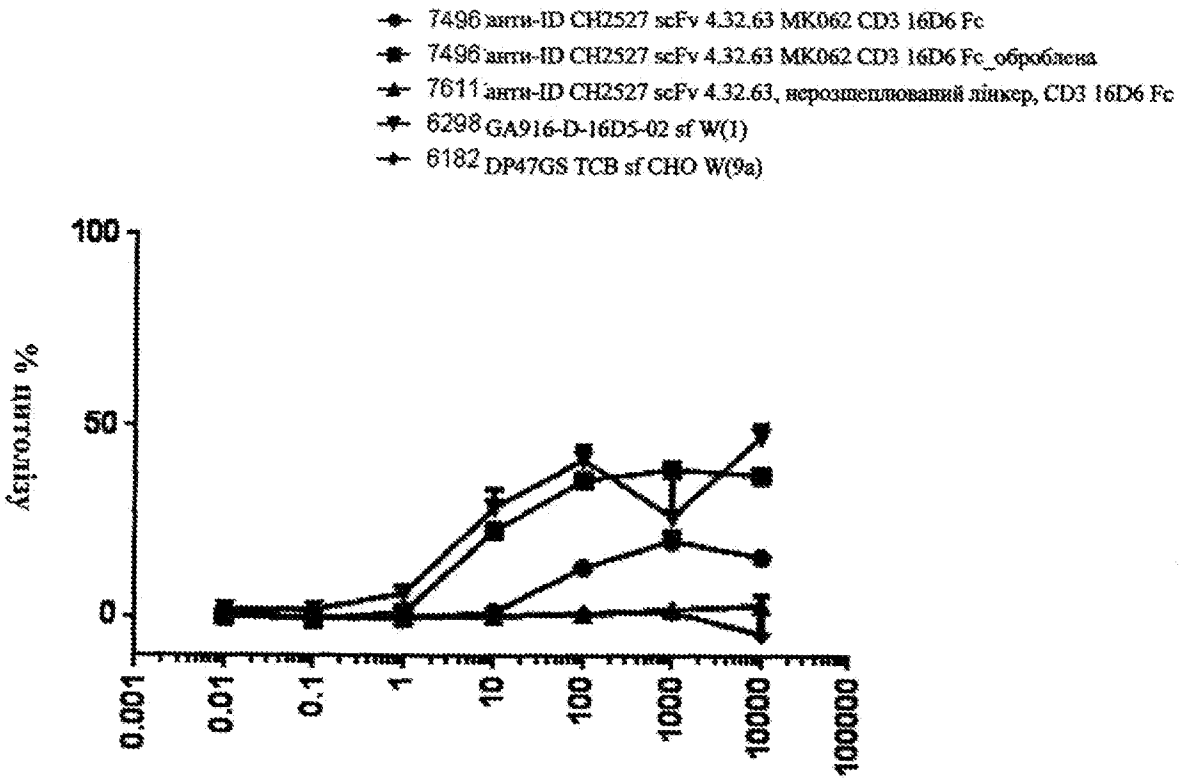
Фіг. 19Б



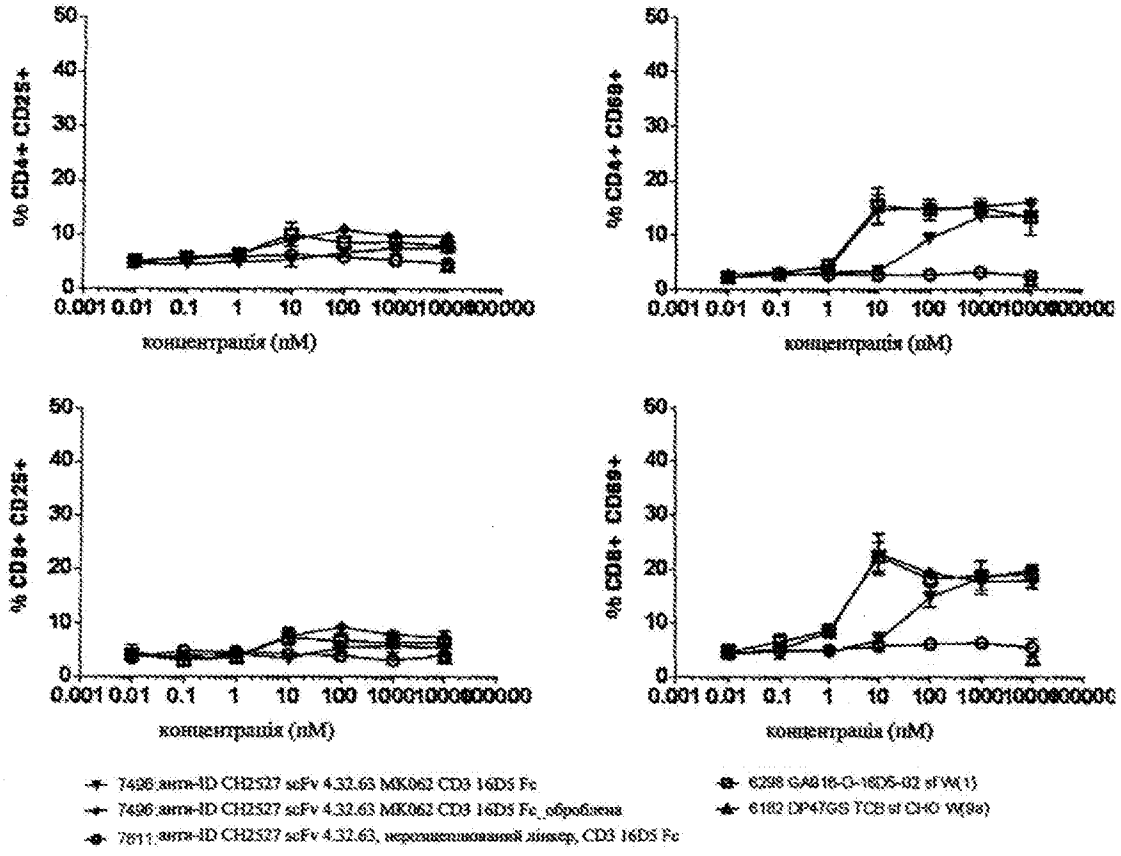
Фіг. 20А



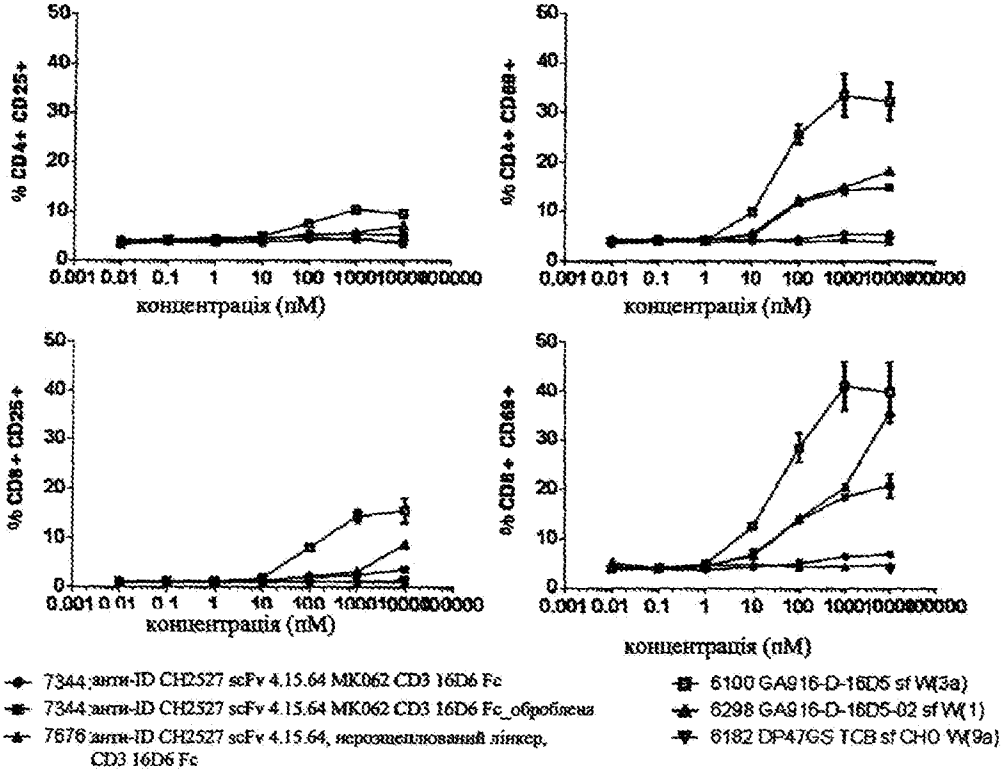
Фіг. 20Б



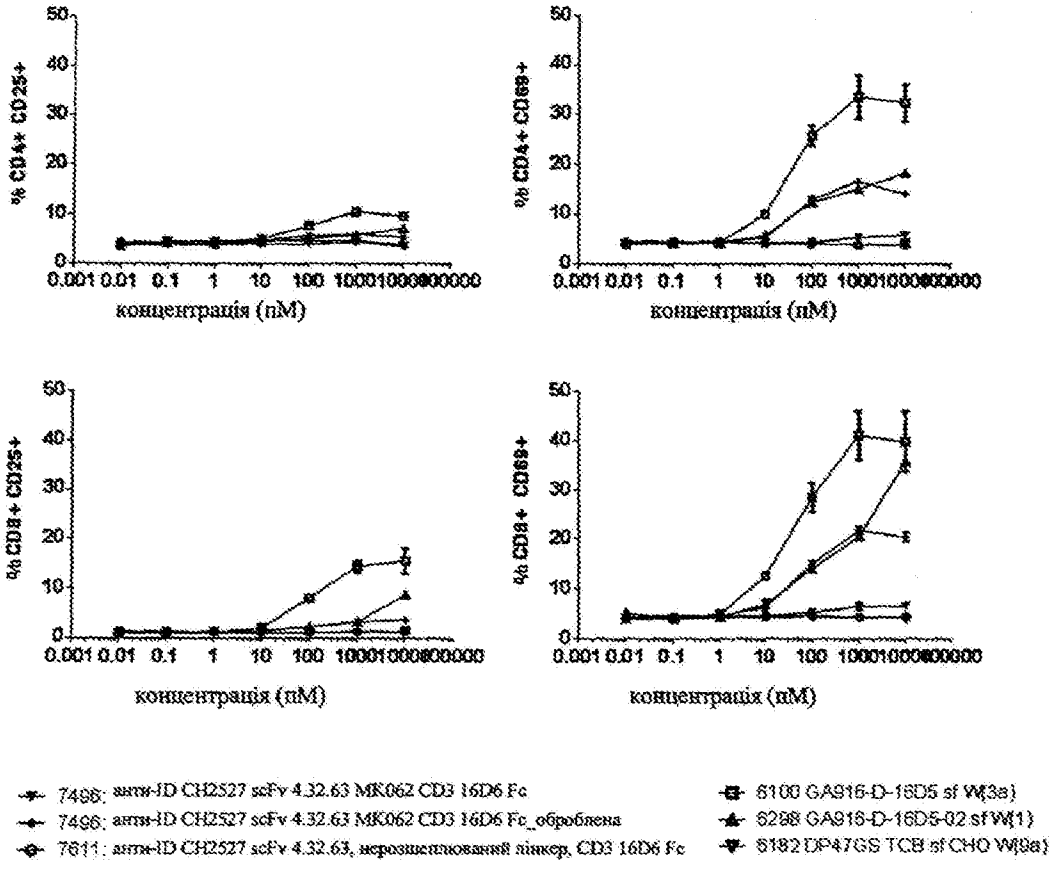
Фіг. 21А



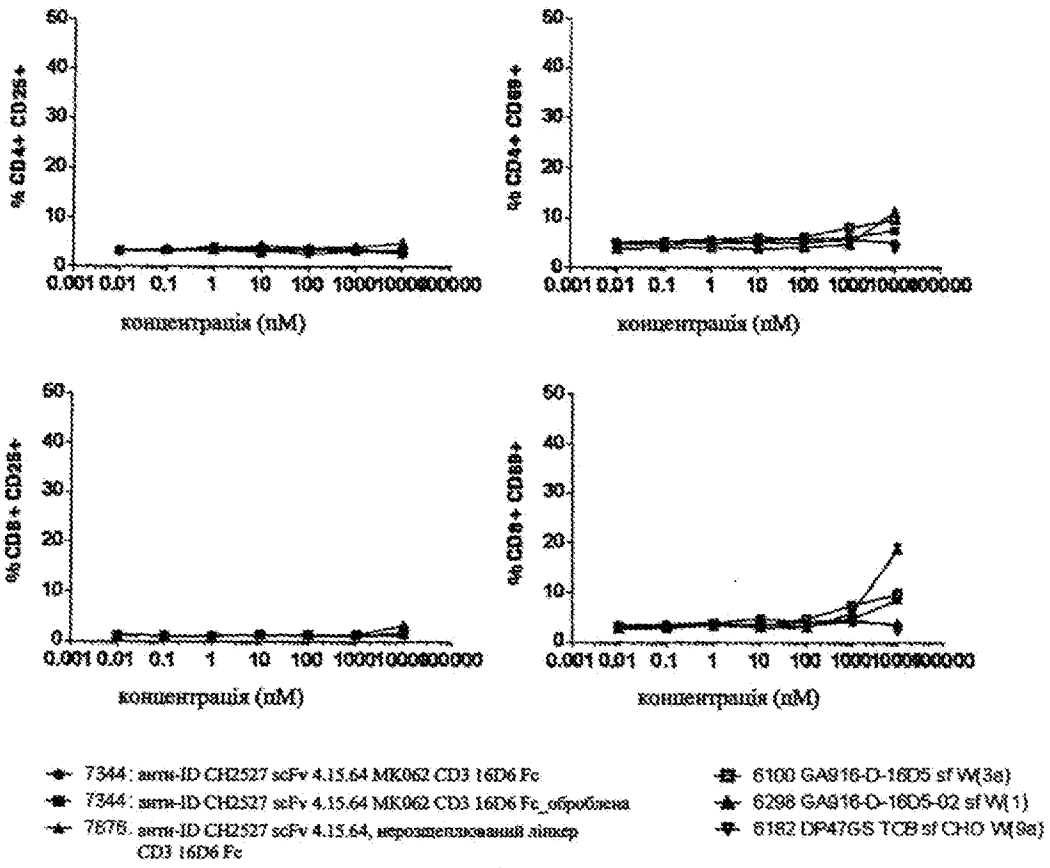
Фіг. 21Б



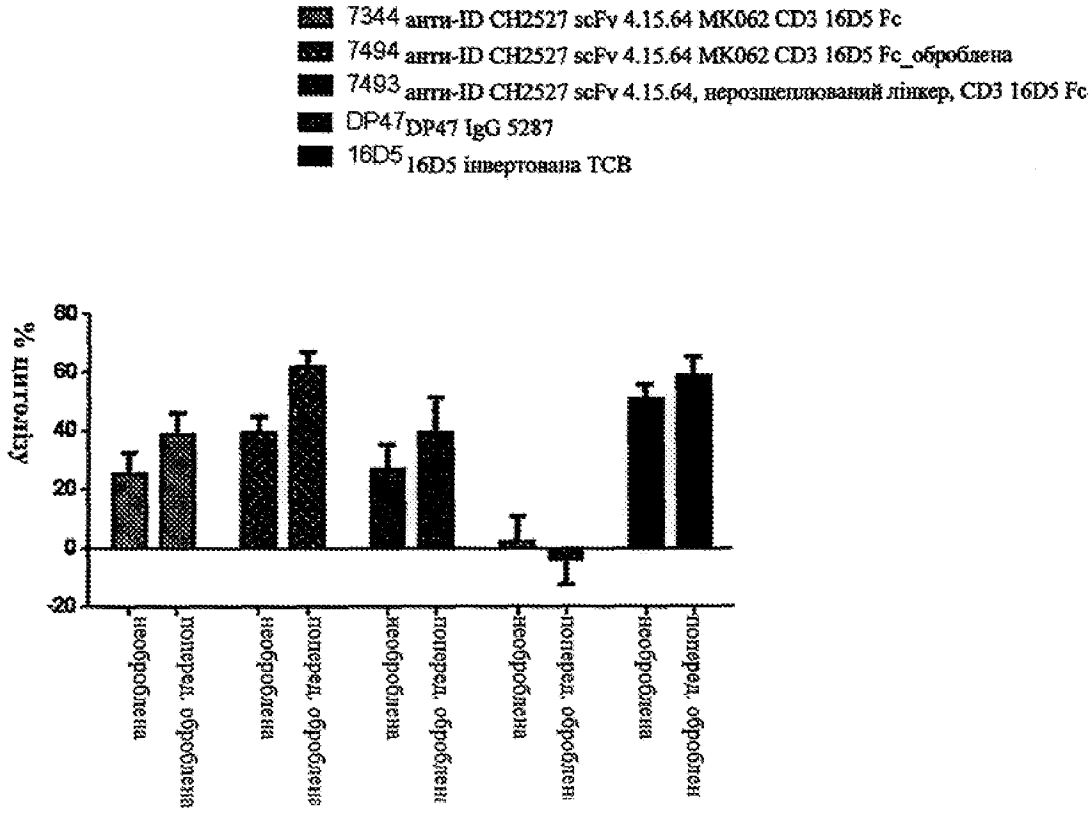
Фіг. 22 А



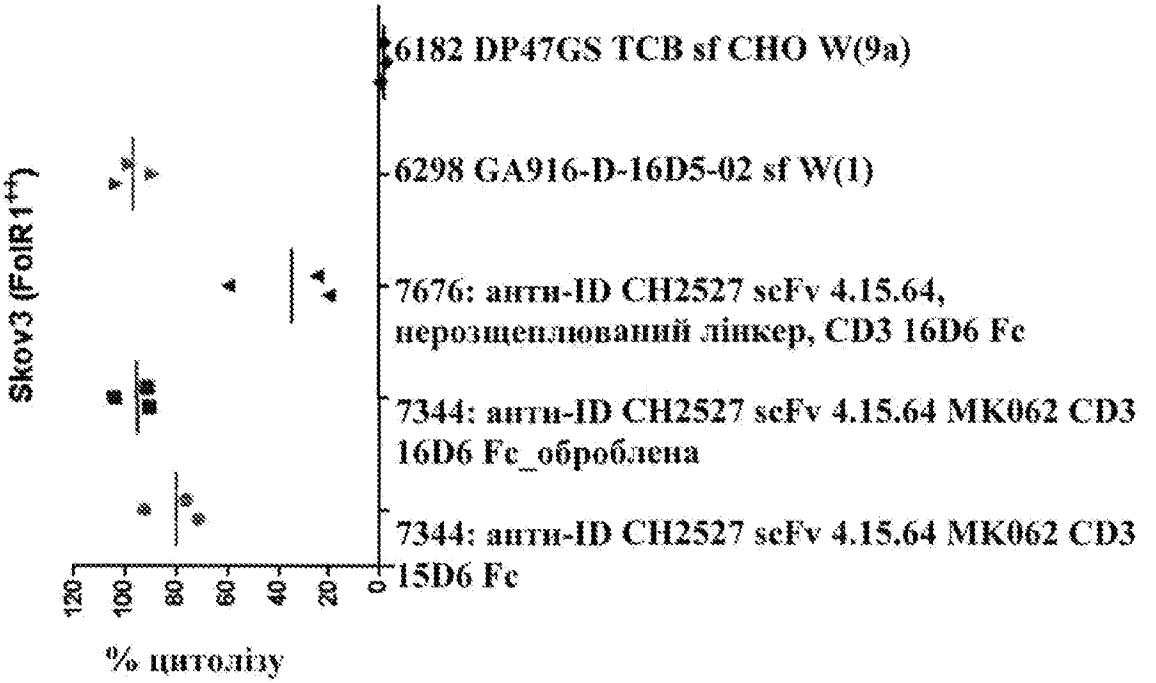
Фіг. 22Б


% CD4+ CD25+
% CD4+ CD69+
% CD8+ CD25+
% CD8+ CD69+
концентрація (нМ)
0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000 100000
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D6 Fc
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D6 Fc_оброблена
7878: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, нерозщеплюваний лінкер CD3 16D6 Fc
6100 GA816-O-16D5 sf W(3a)
6298 GA816-O-16D5-02 sf W(1)
6182 DP47GS TCB sf CHO W(3a)

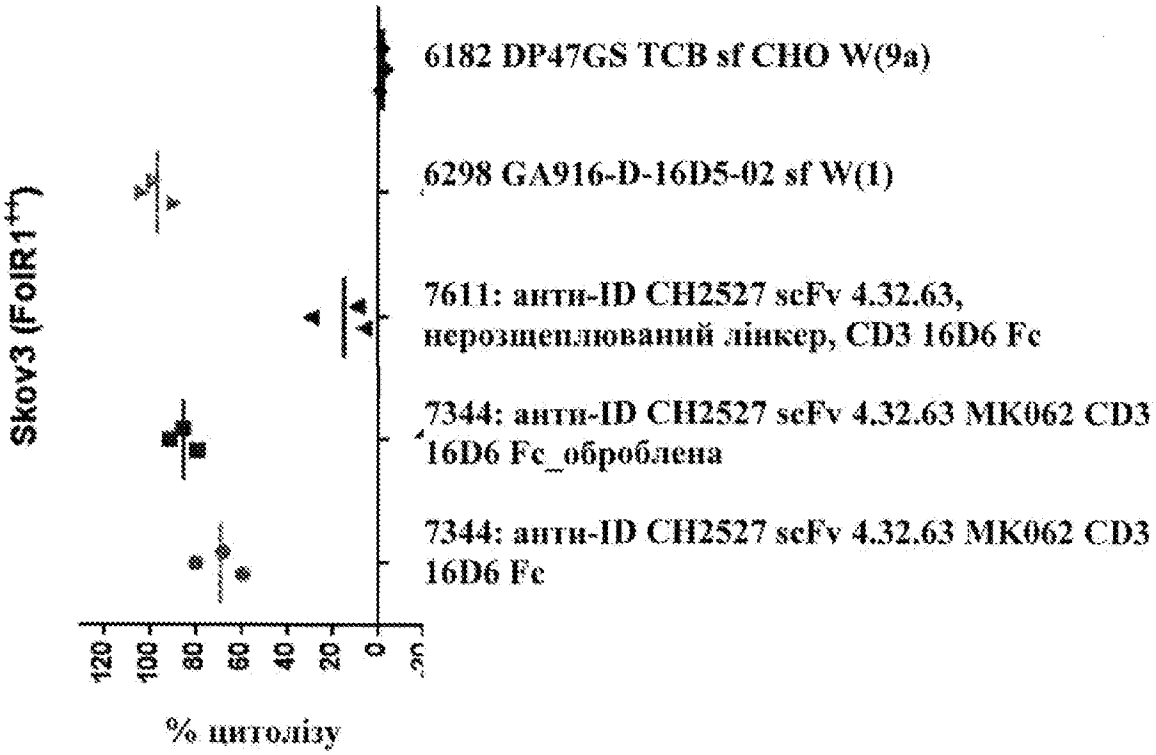
Фіг. 23


7344 анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D5 Fc
7494 анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D5 Fc_оброблена
7493 анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, нерозщеплюваний лінкер, CD3 16D5 Fc
DP47 DP47 IgG 5287
16D5 16D5 інвертована TCB
% цитолізу
80
60
40
20
0
-20
необроблена
попередньо оброблена

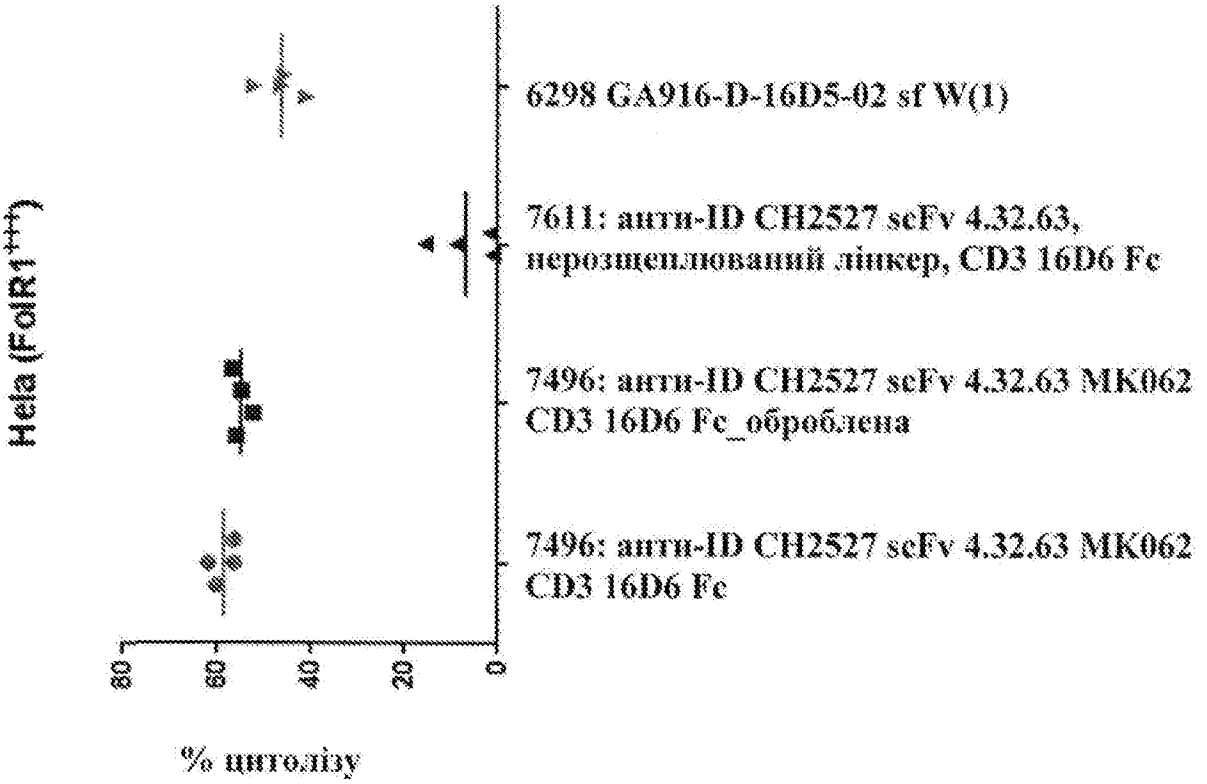
Фіг. 24


6182 DP47GS TCB sf CHO W(9a)
6298 GA916-D-16D5-02 sf W(1)
7676: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64, нерозщеплюваний лінкер, CD3 16D6 Fc
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 16D6 Fc_оброблена
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.15.64 MK062 CD3 15D6 Fc
Skov3 (FolR1++)
120
100
80
60
40
20
0
% цитолізу

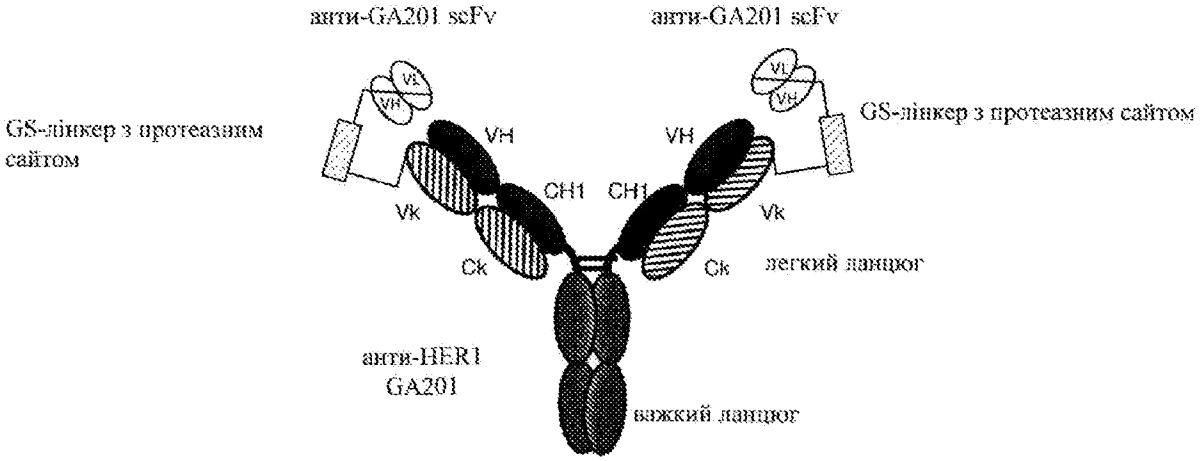
Фіг. 25


6182 DP47GS TCB sf CHO W(9a)
6298 GA916-D-16D5-02 sf W(1)
7611: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, нерозщеплюваний лінкер, CD3 16D6 Fc
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc_оброблена
7344: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc
Skov3 (FolR1++)
120
100
80
60
40
20
0
% цитолізу

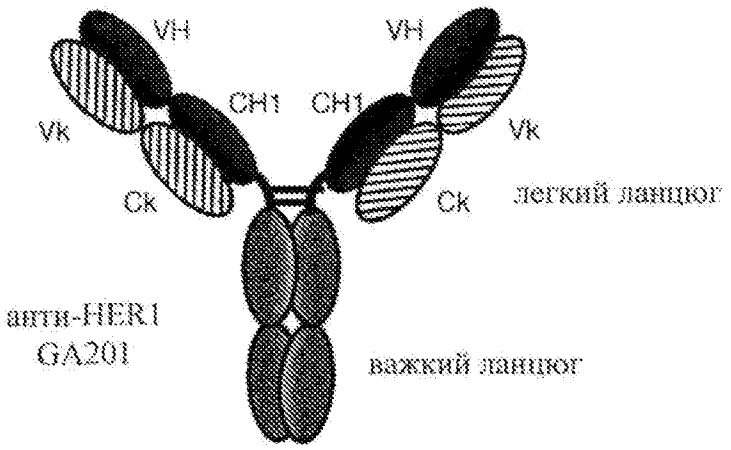
Фіг. 26


6298 GA916-D-16D5-02 sf W(1)
7611: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63, перозщеплюваний лінкер, CD3 16D6 Fc
7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc_оброблена
7496: анти-ID CH2527 scFv 4.32.63 MK062 CD3 16D6 Fc
Hela (FolR1+++)
80
60
40
20
0
% цитолізу

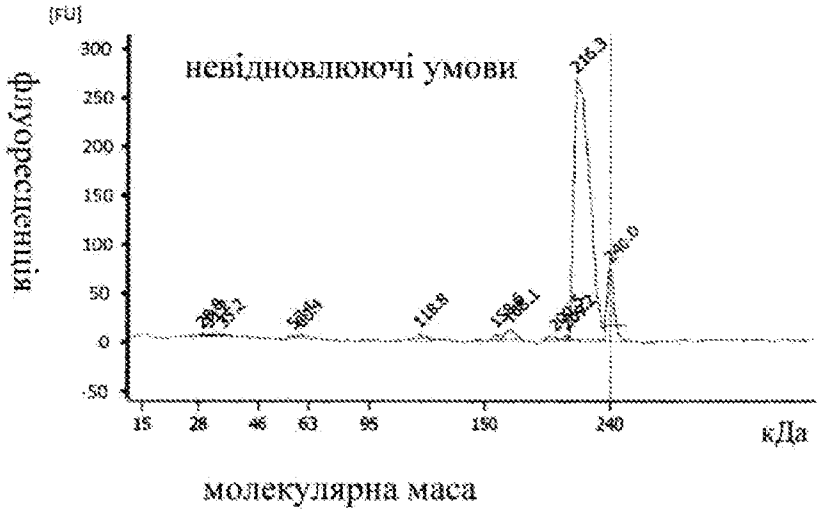
Фіг. 27


анти-GA201 scFv
анти-GA201 scFv
GS-лінкер з протеазним сайтом
GS-лінкер з протеазним сайтом
VH
VL
VH
VL
CH1
CH1
Vk
Vk
Ck
Ck
легкий ланцюг
анти-HER1 GA201
важкий ланцюг

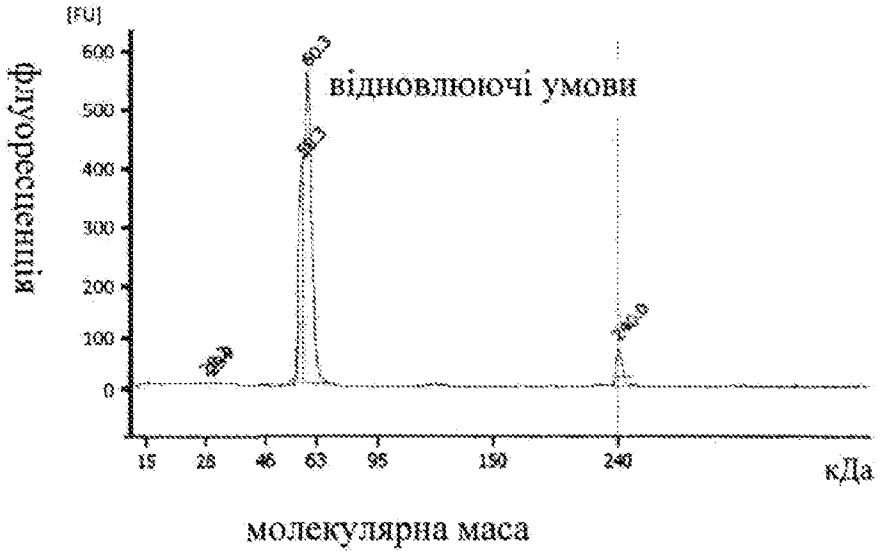
Фіг. 28



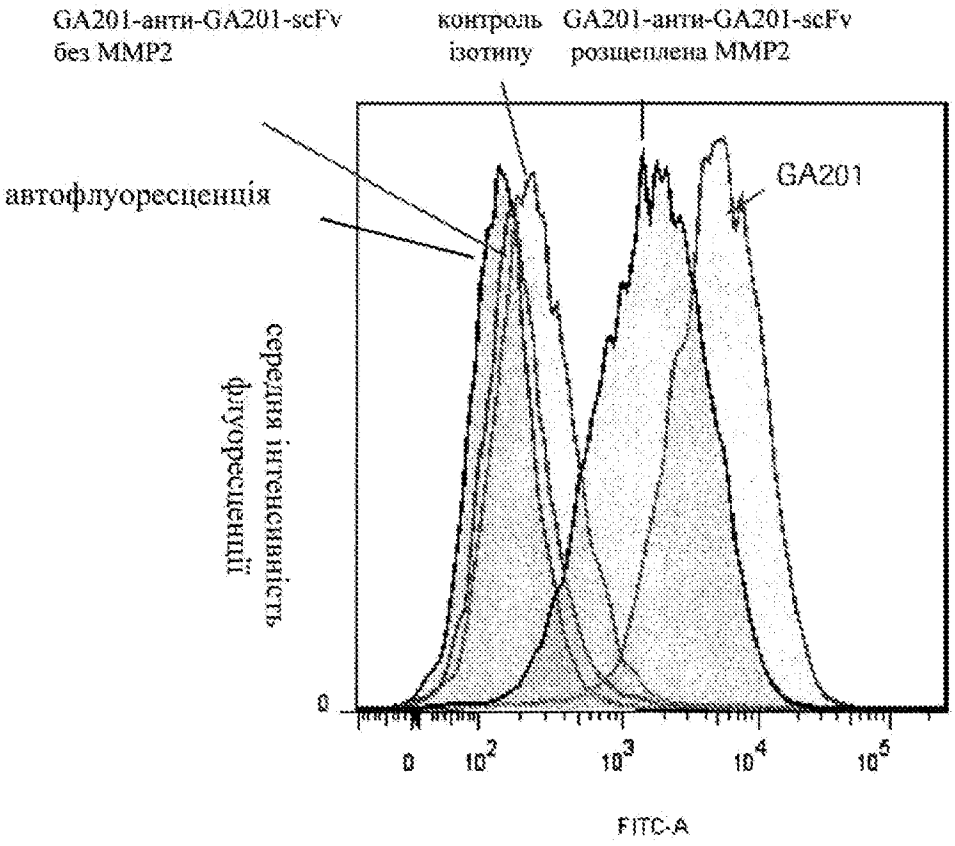
Фіг. 29



Фіг. 30А



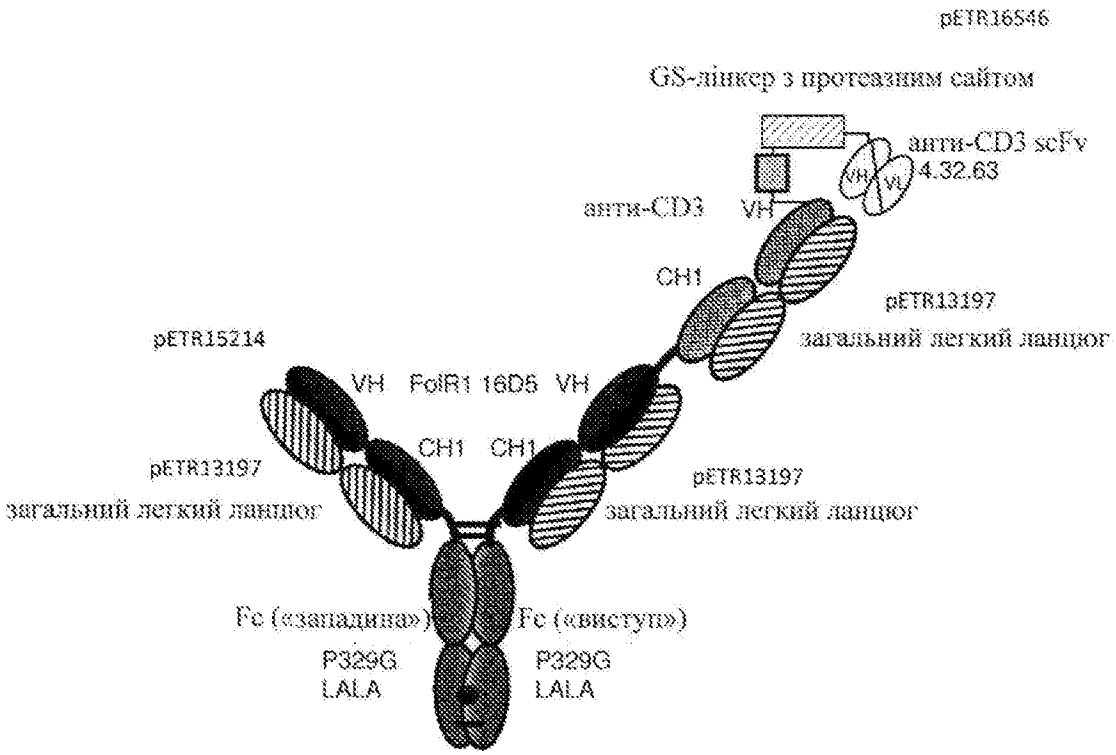
Фіг. 30Б



Фіг. 31

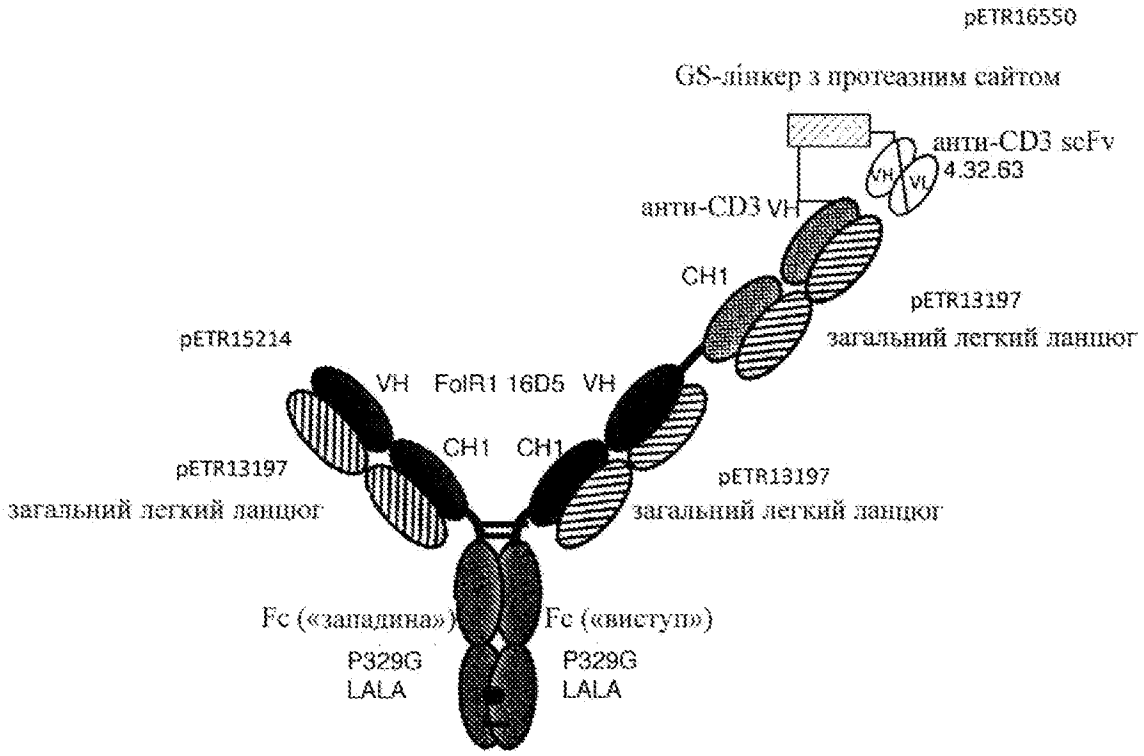
Молекула	Ізотип	Темп.	k_a (1/Мс)	k_d(1/с)	kD (нМ)
GA201	IgG1, каппа	37 °C	1.68E+05	1.20E-04	1
GA201-анти-GA201-scFv, розщепл. MMP2	IgG1, каппа	37°C	1.03E+05	1.63E-04	2
GA201-анти-GA201-scFv без MMP2	IgG1, каппа	37°C	-	-	

Фіг. 32



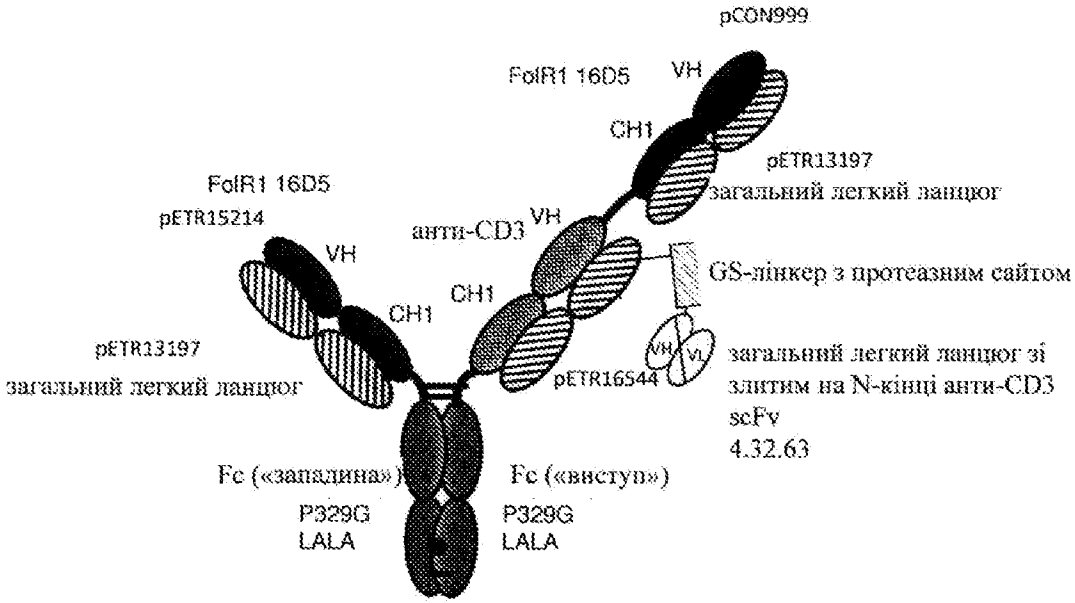
8364

Фіг. 33A



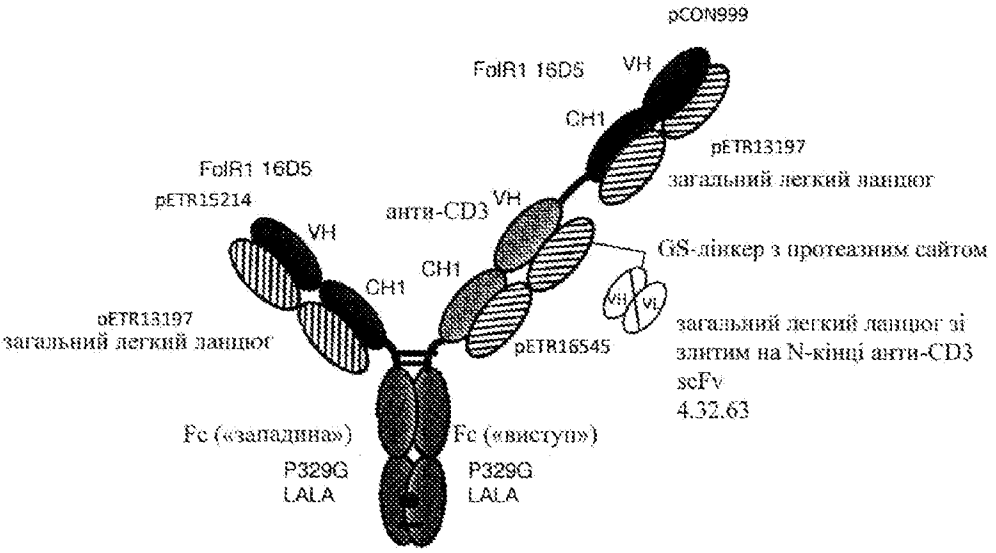
8363

Фіг. 33Б



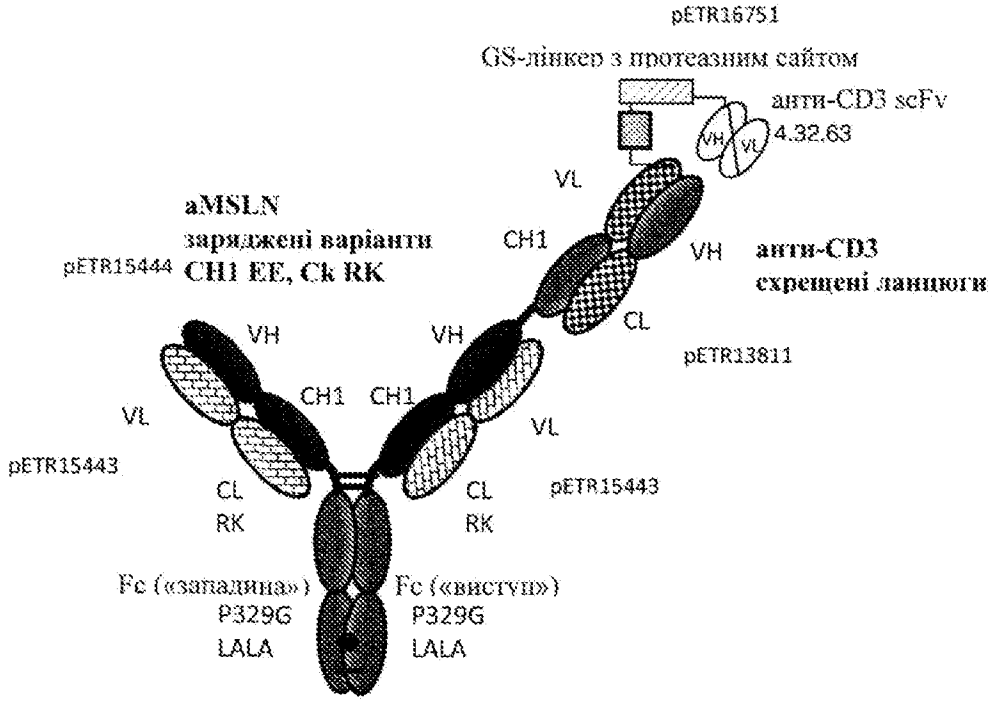
8365

Фіг. 33В



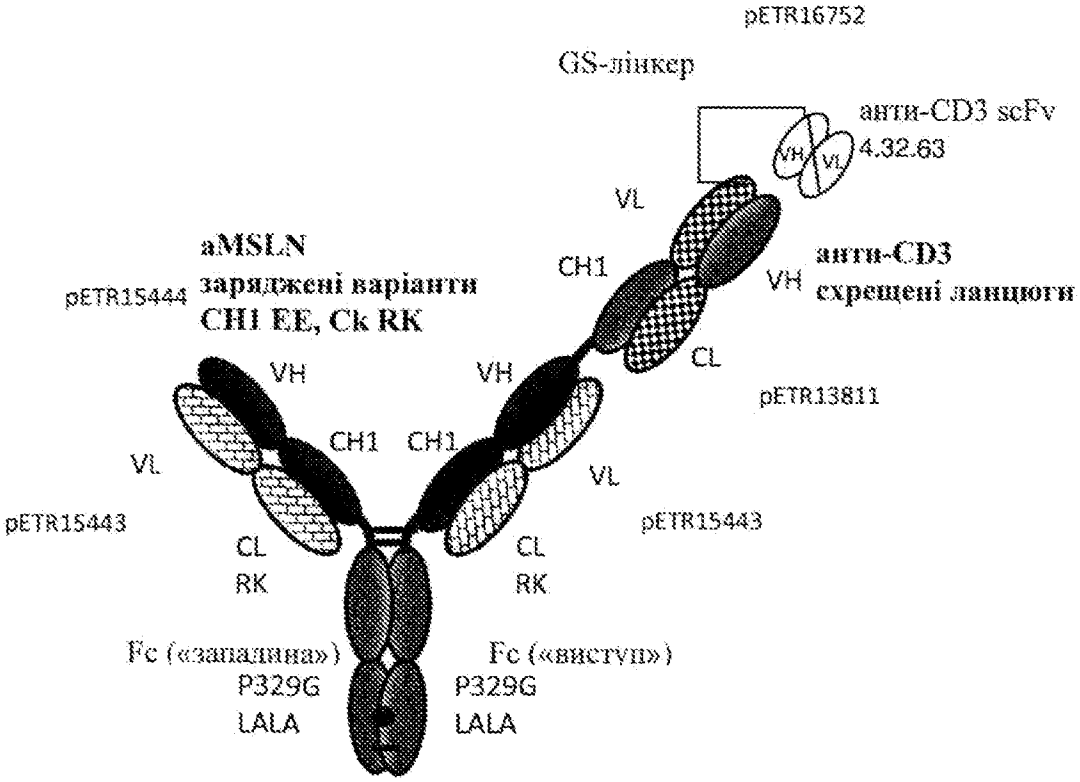
8366

Фіг. 33Г



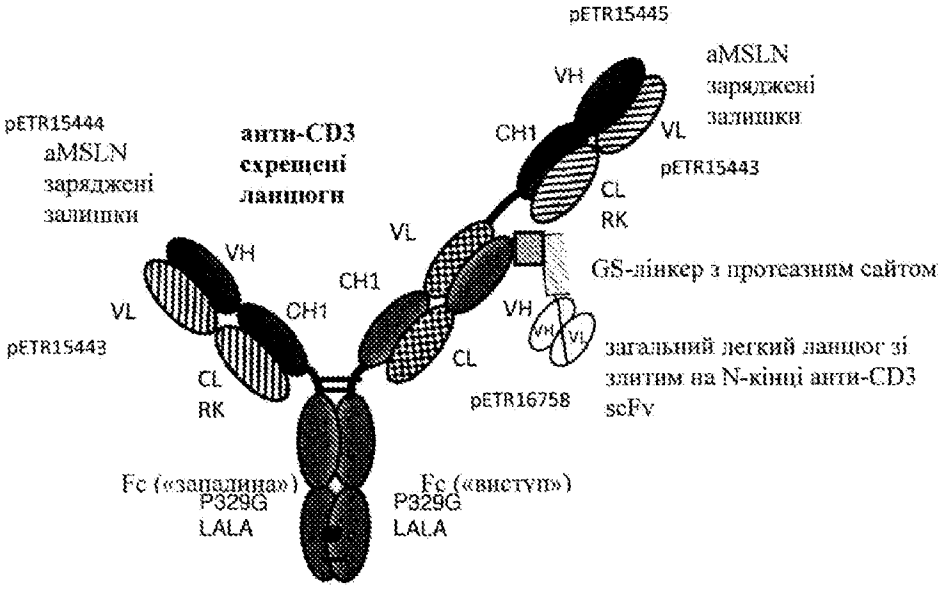
8672

Фіг. 33Д



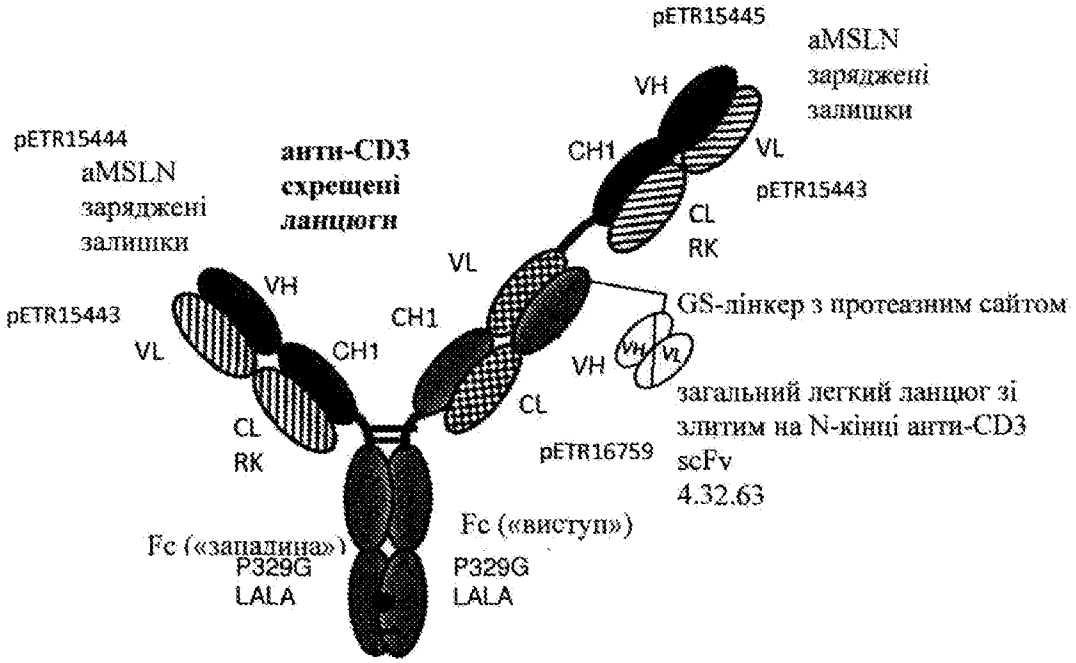
8673

Фіг. 33Е



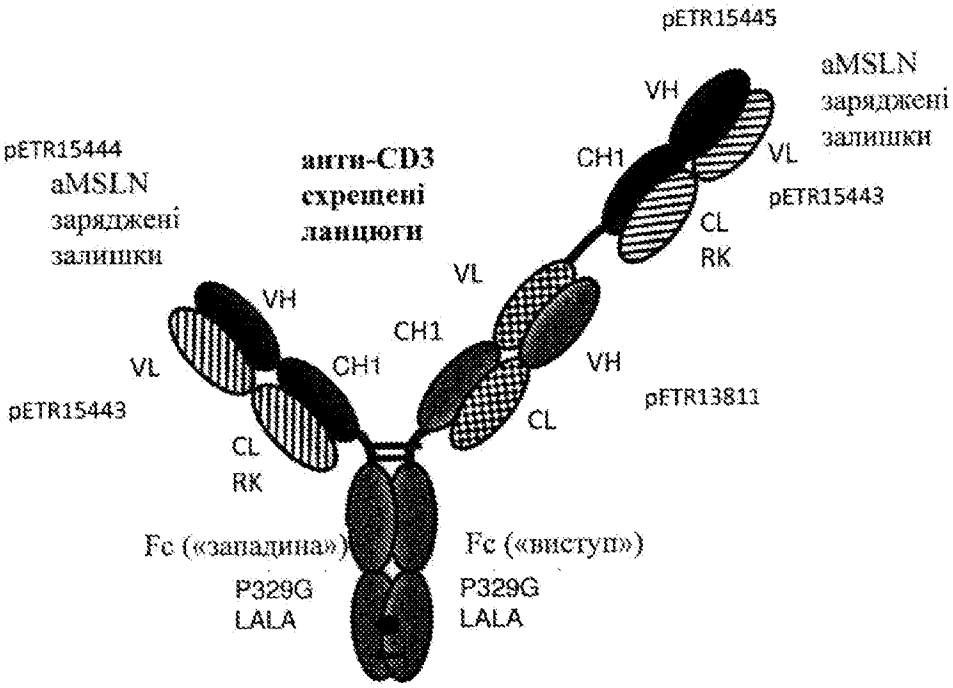
8674

Фіг. 33Ж



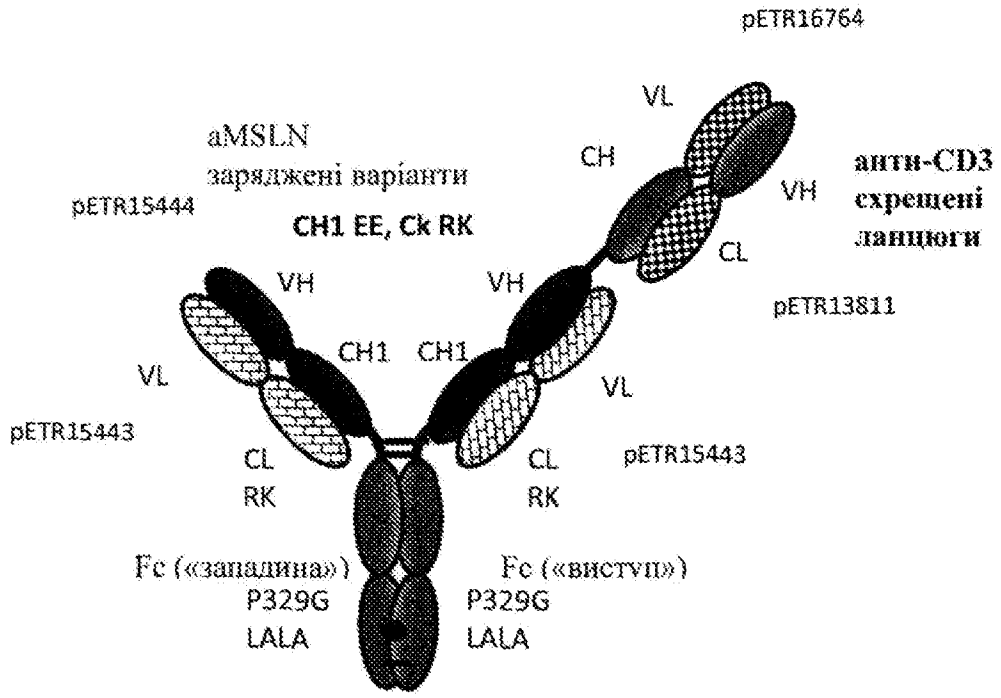
8675

Фіг. 33



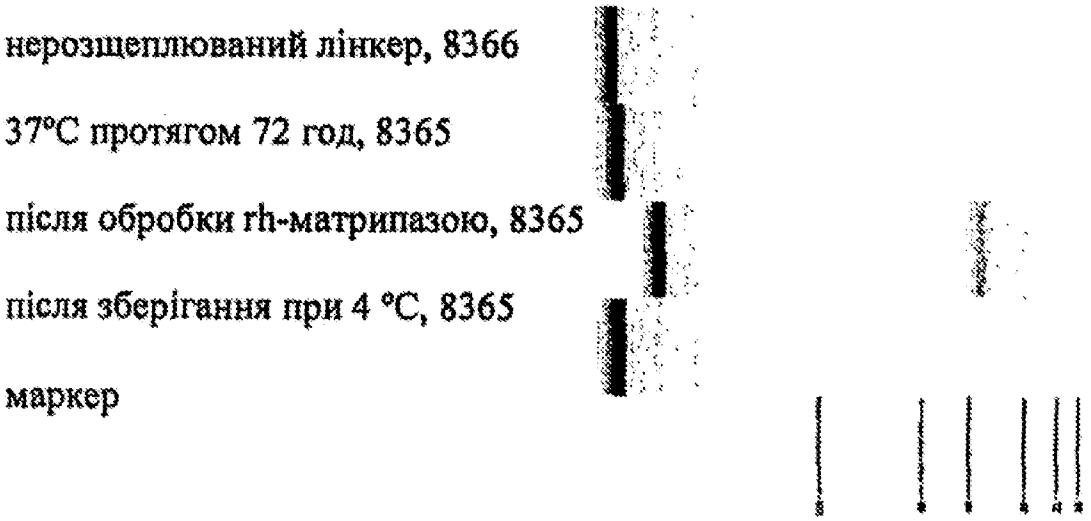
8505

Фіг. 33I

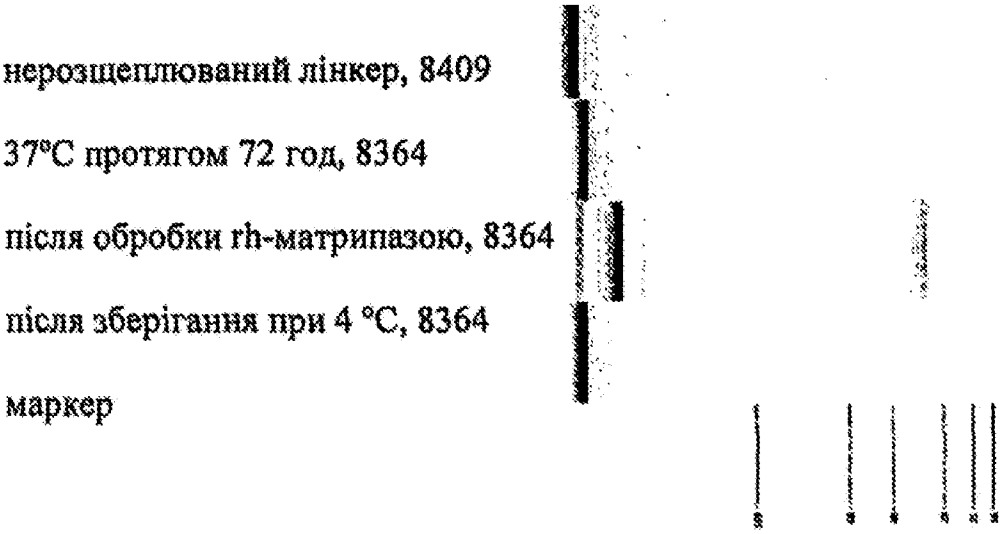


8676

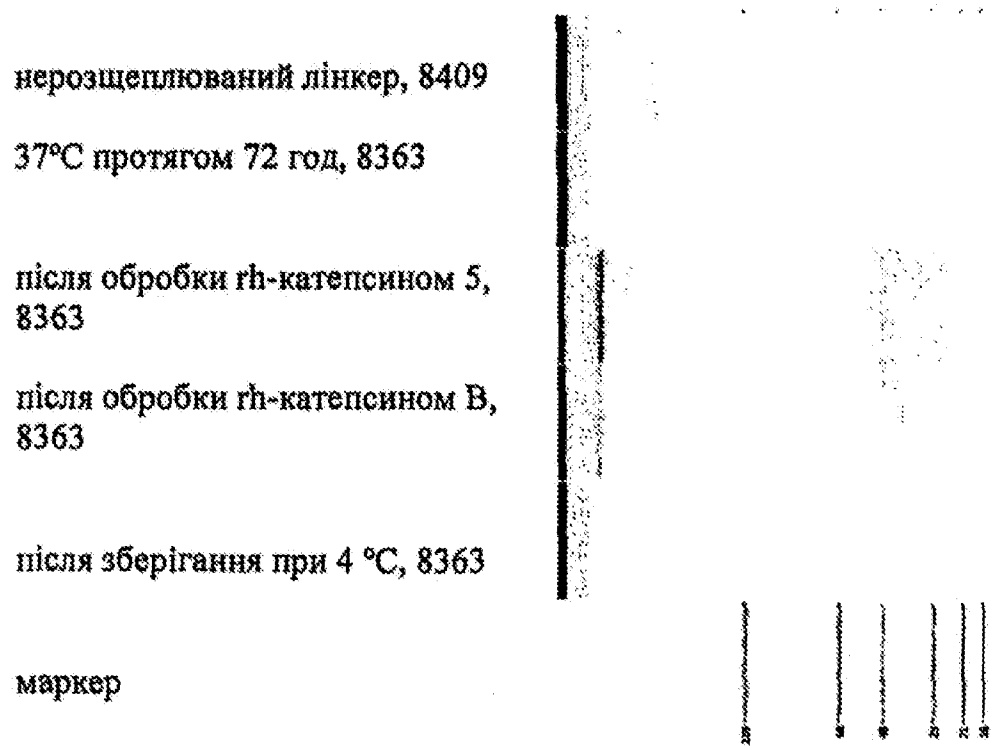
Фіг. 33K



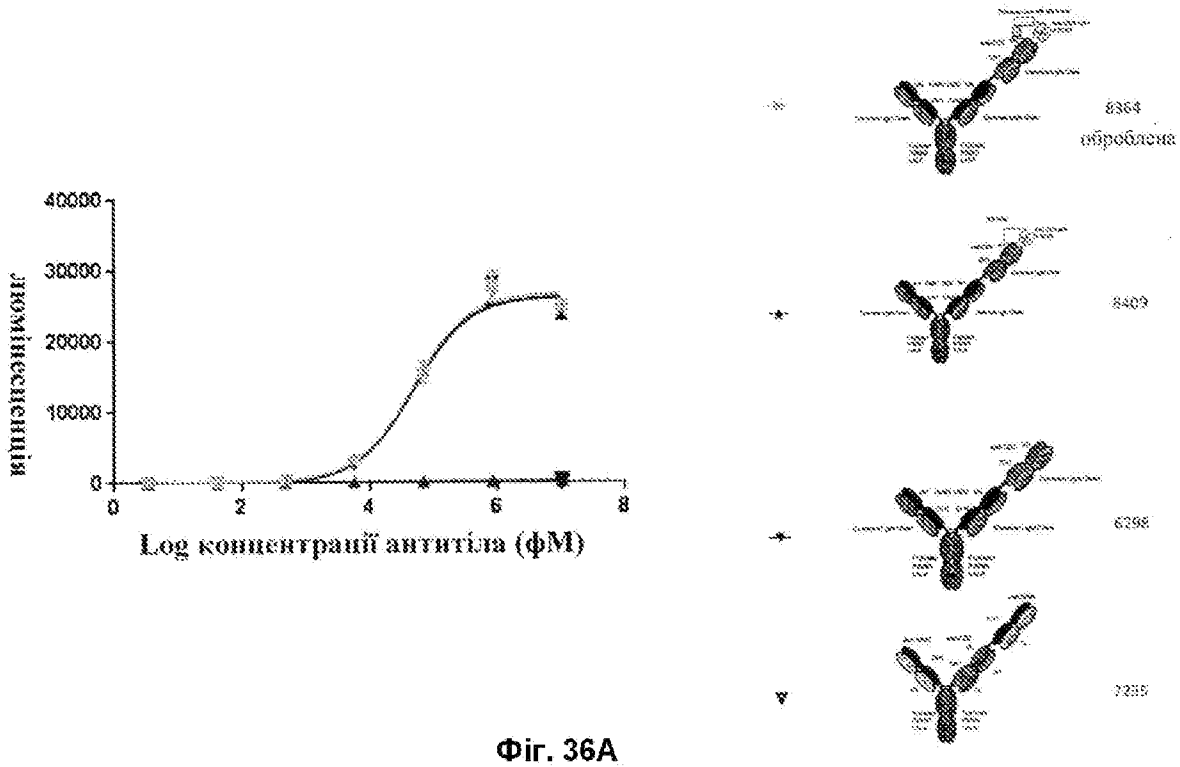
Фіг. 34



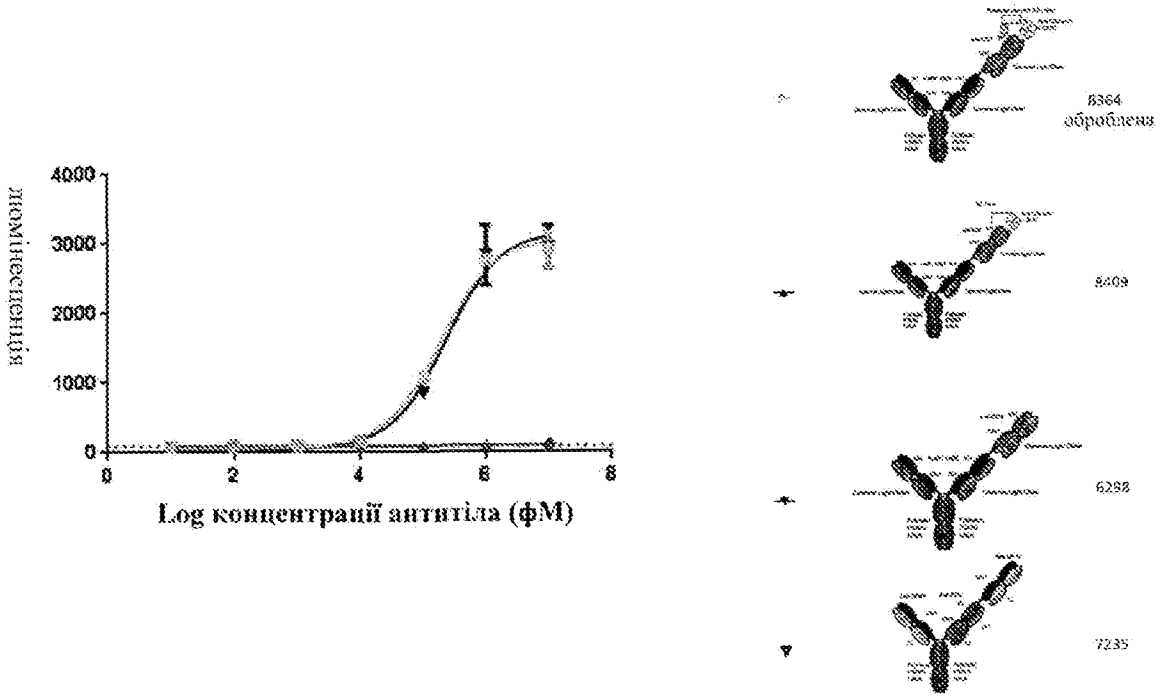
Фіг. 35А



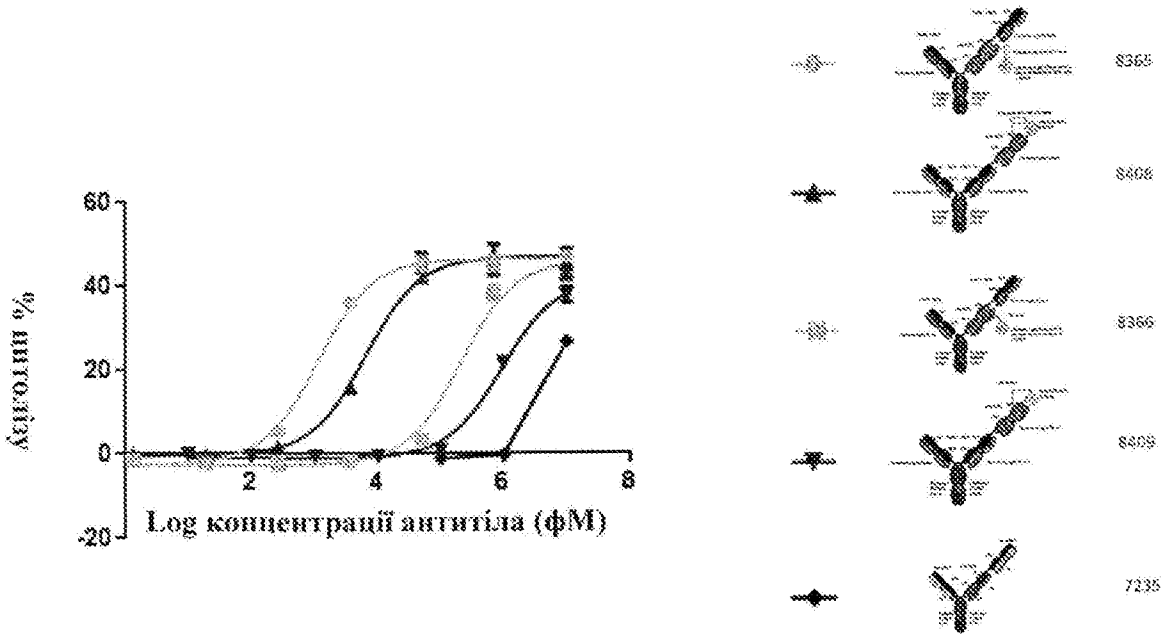
Фіг. 35Б



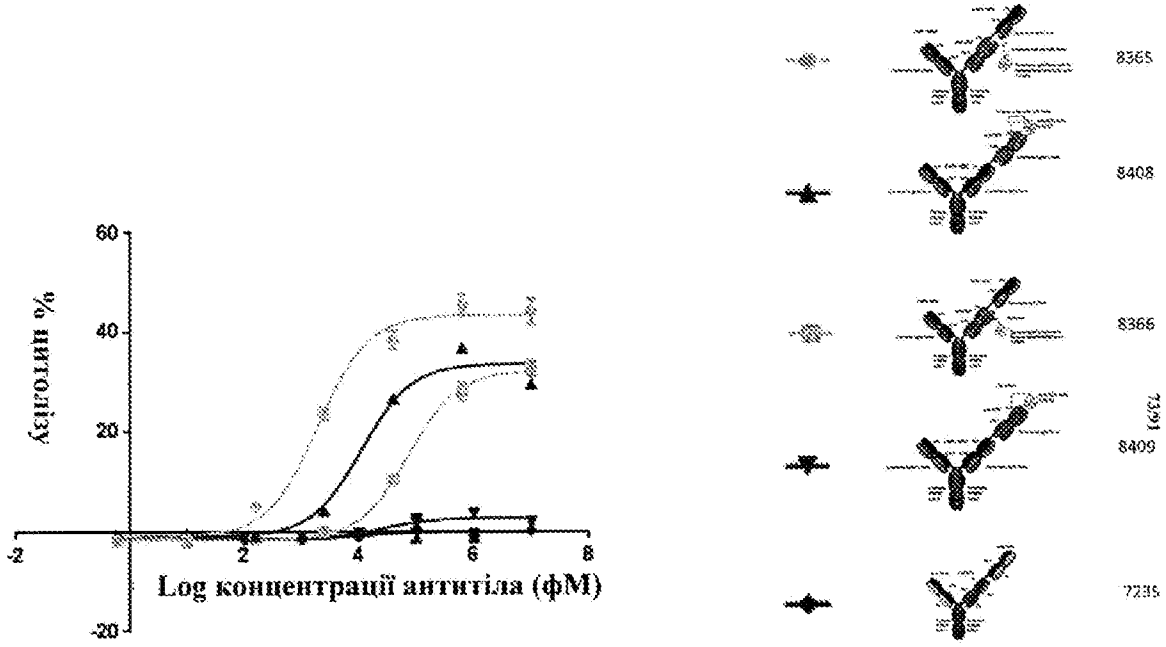
Фіг. 36А



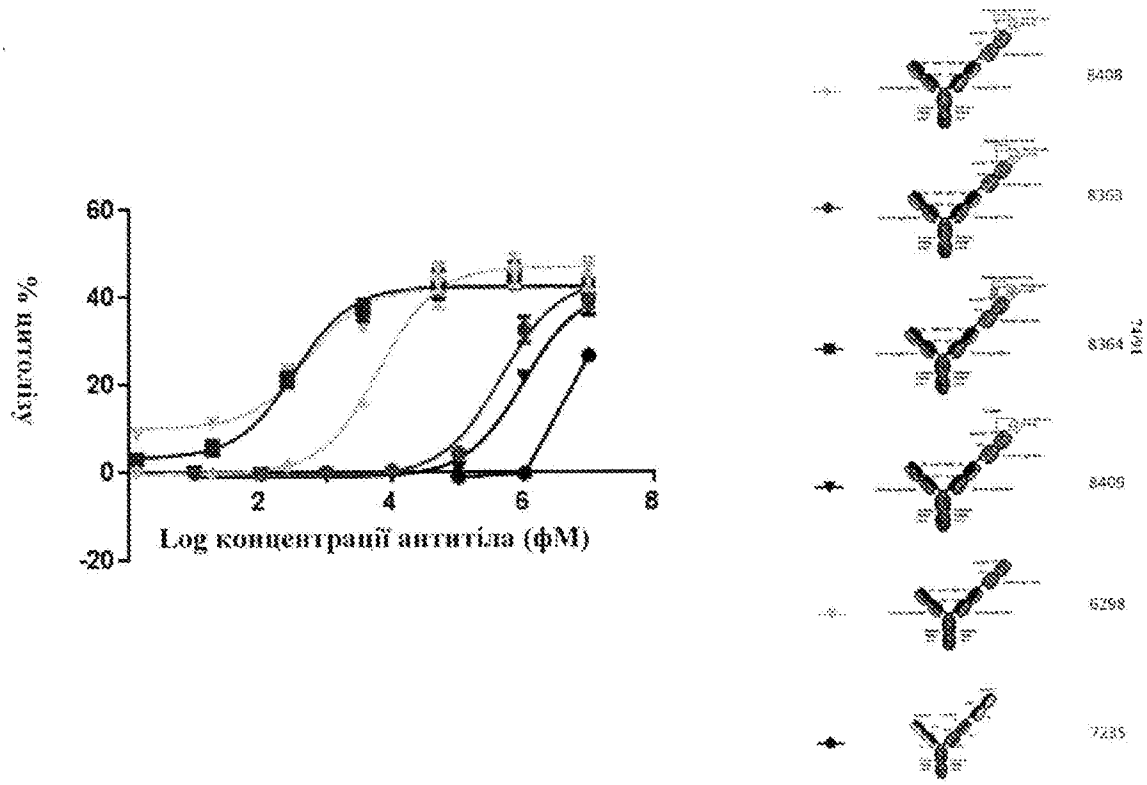
Фіг. 36Б



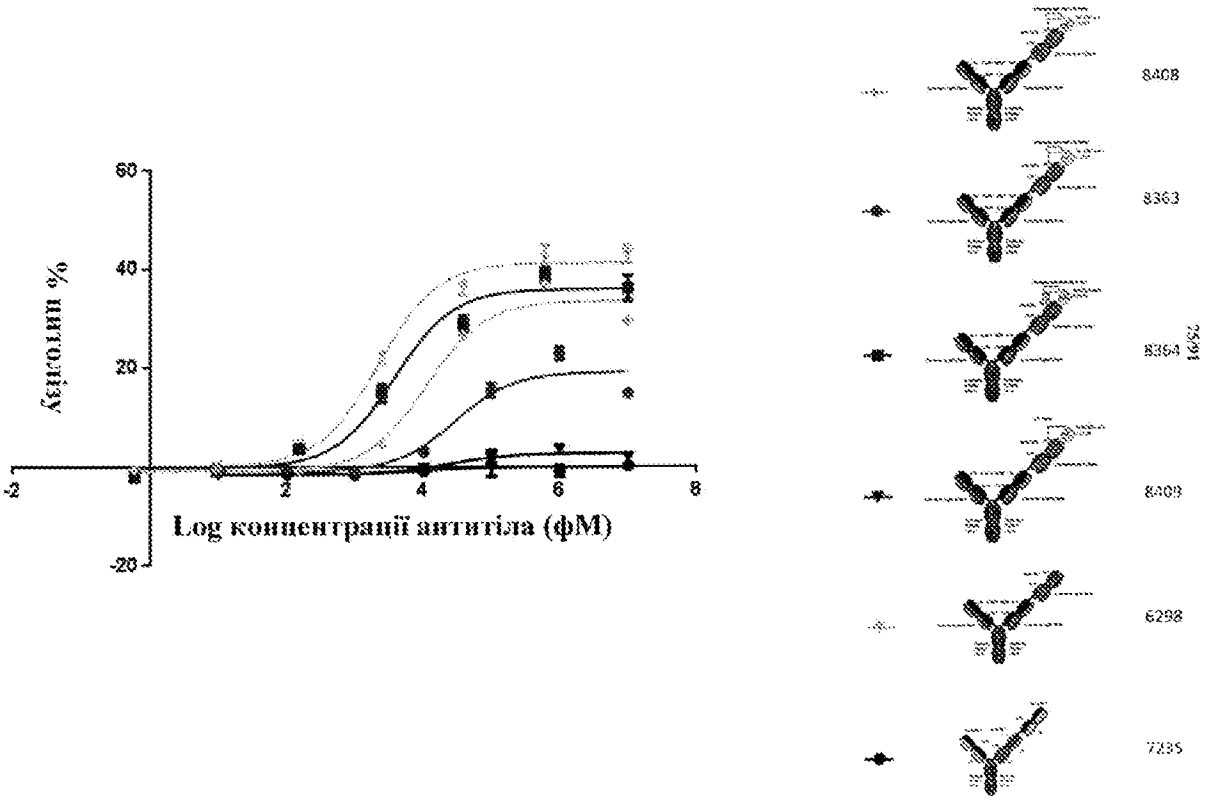
Фіг. 37А



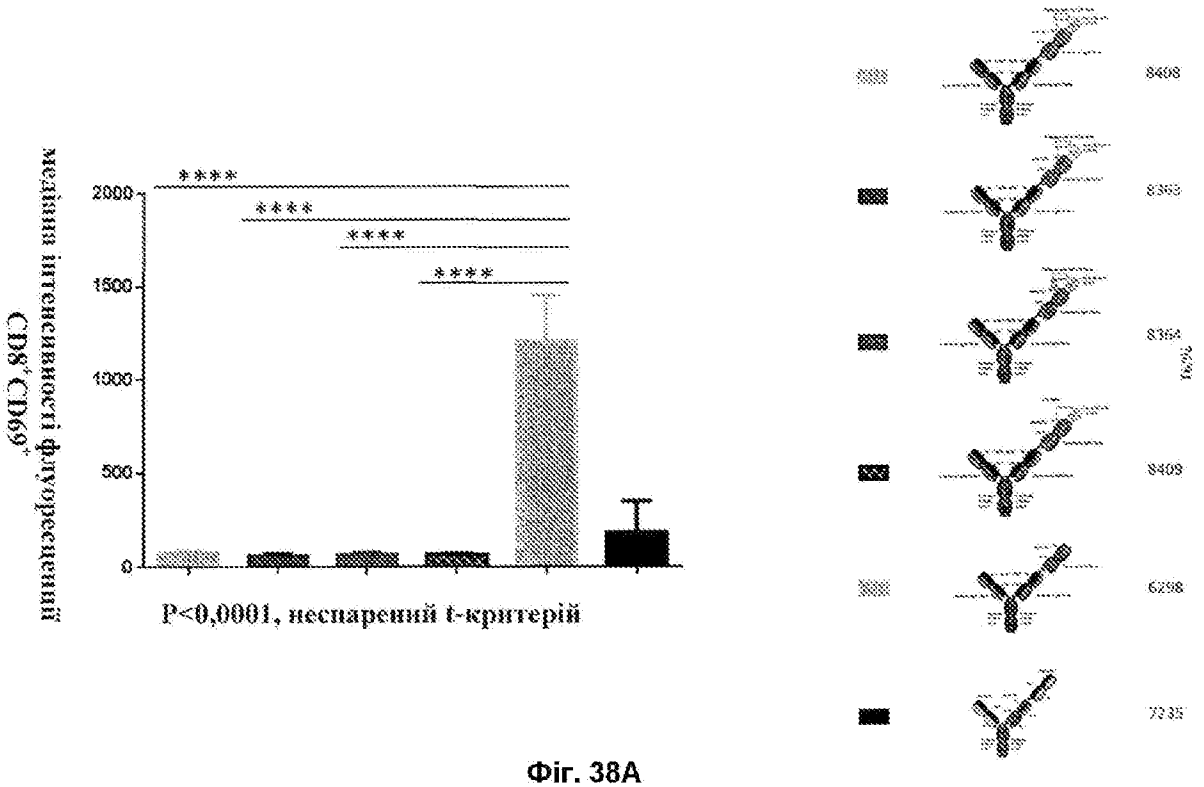
Фіг. 37Б



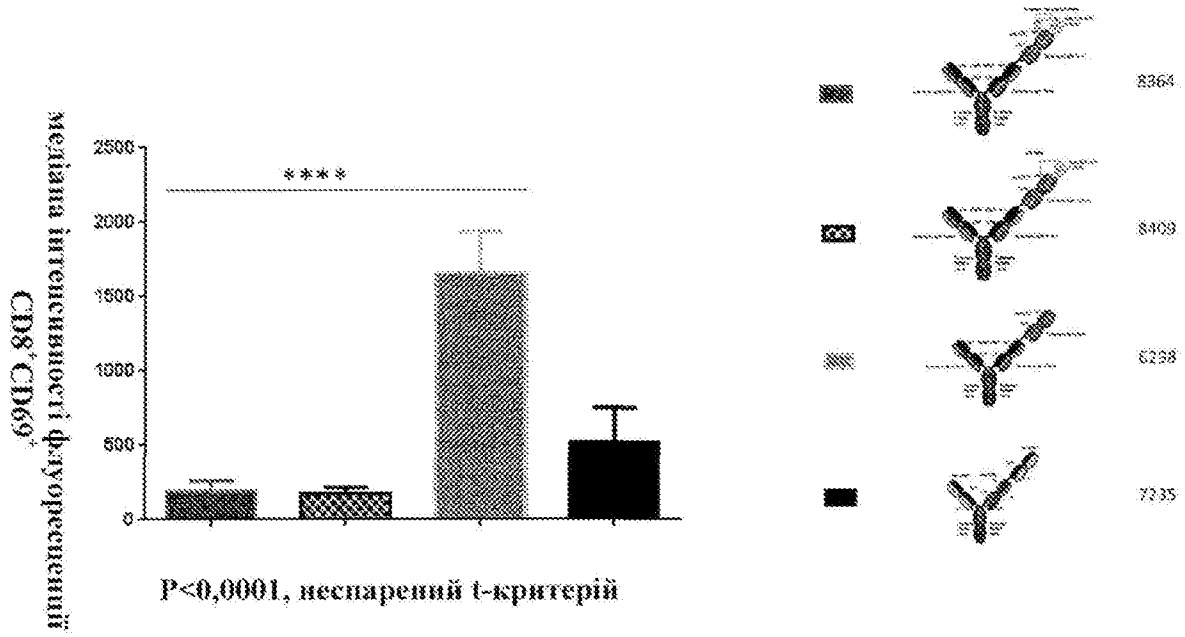
Фіг. 37В



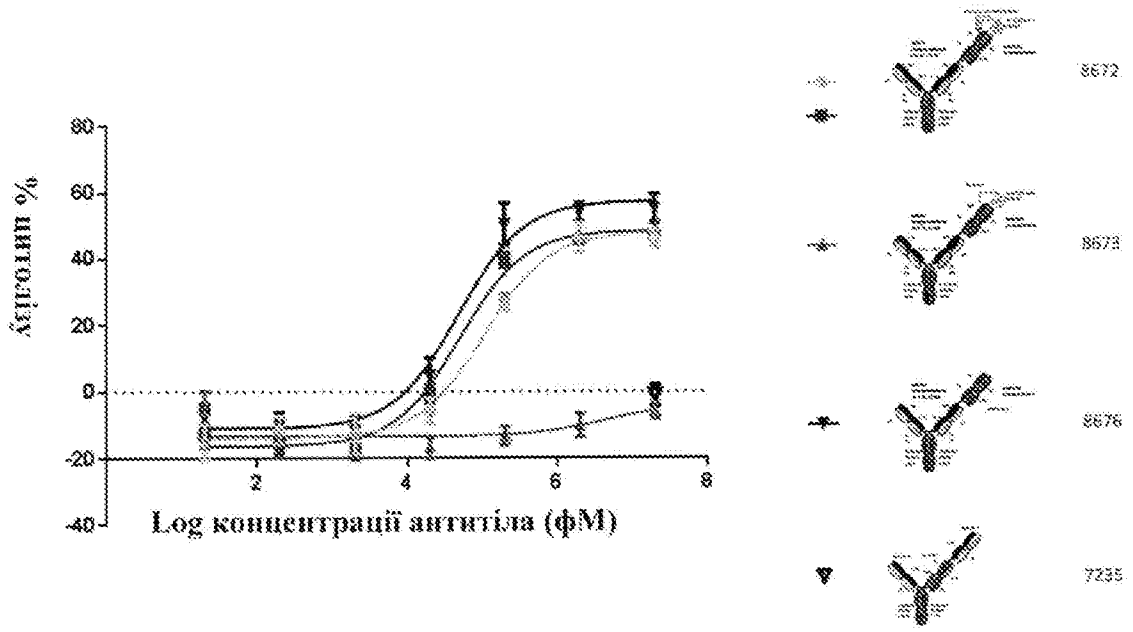
Фіг. 37Г



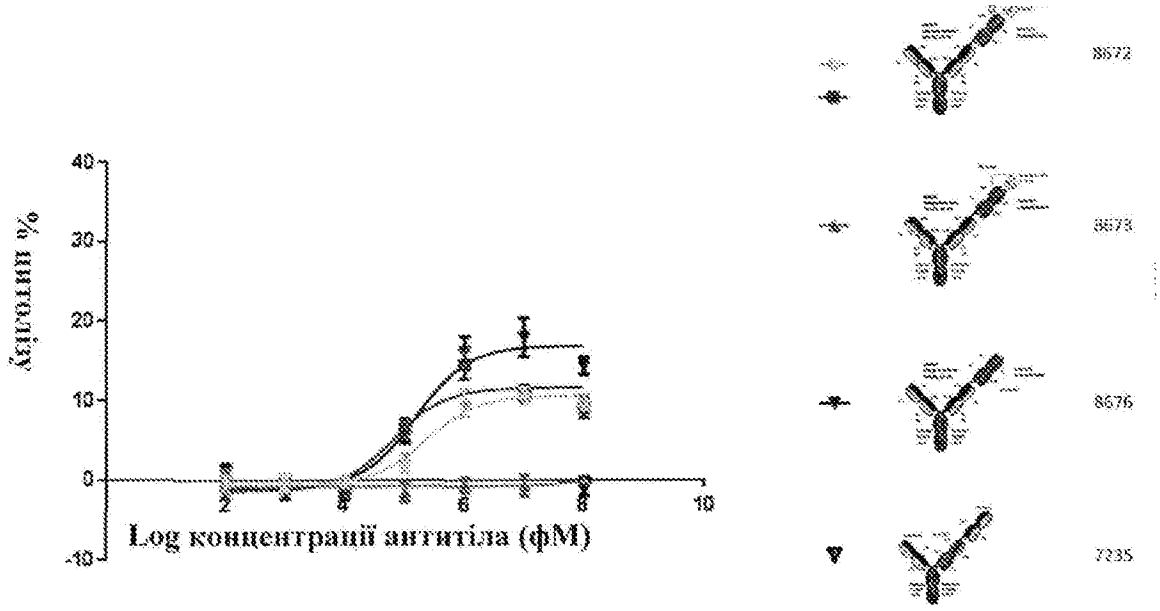
Фіг. 38А



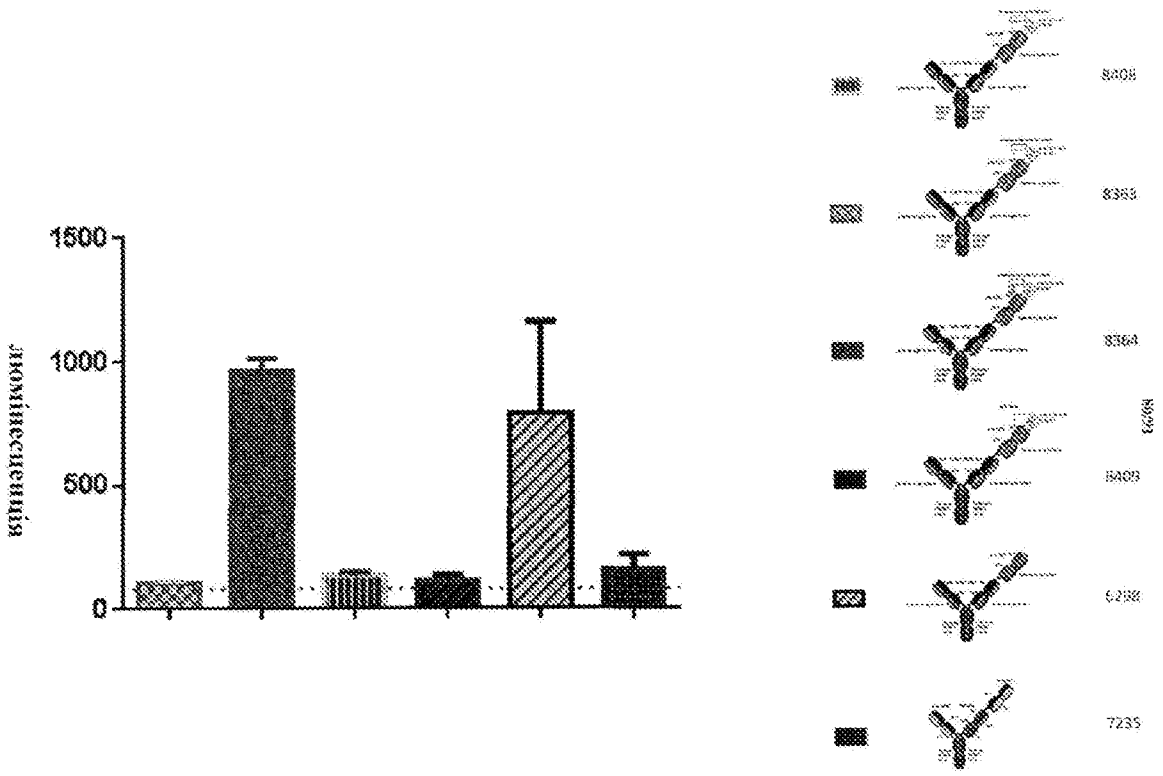
Фіг. 38Б



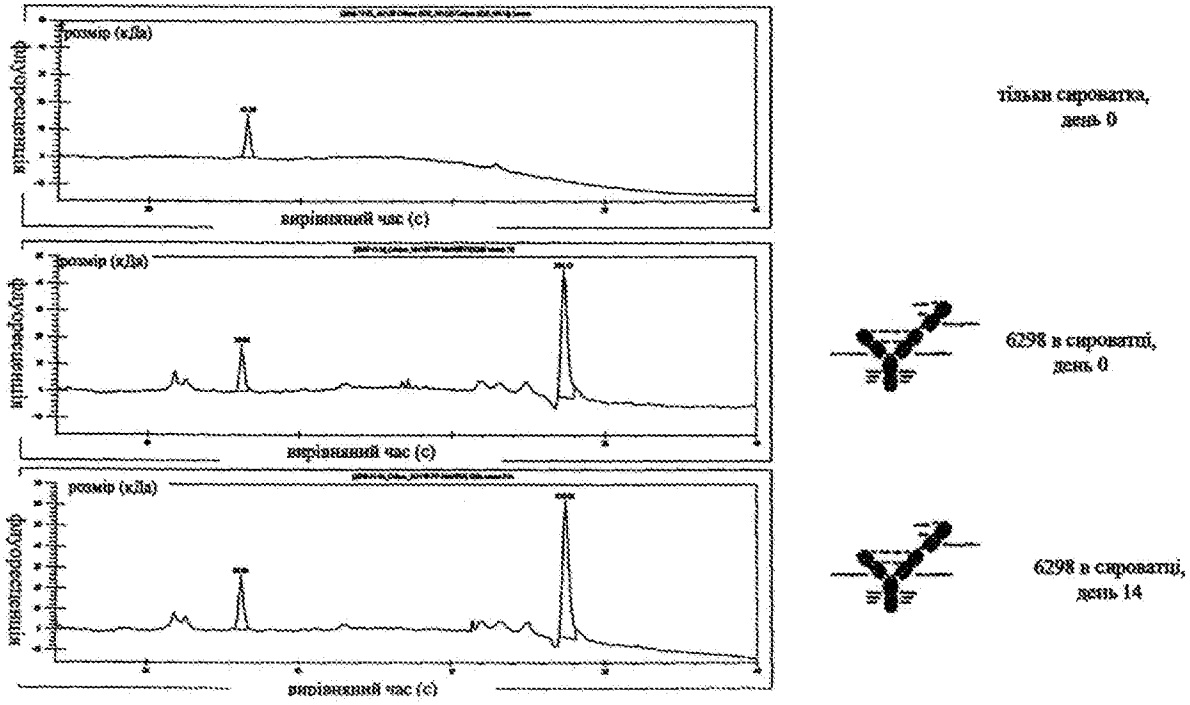
Фіг. 39А



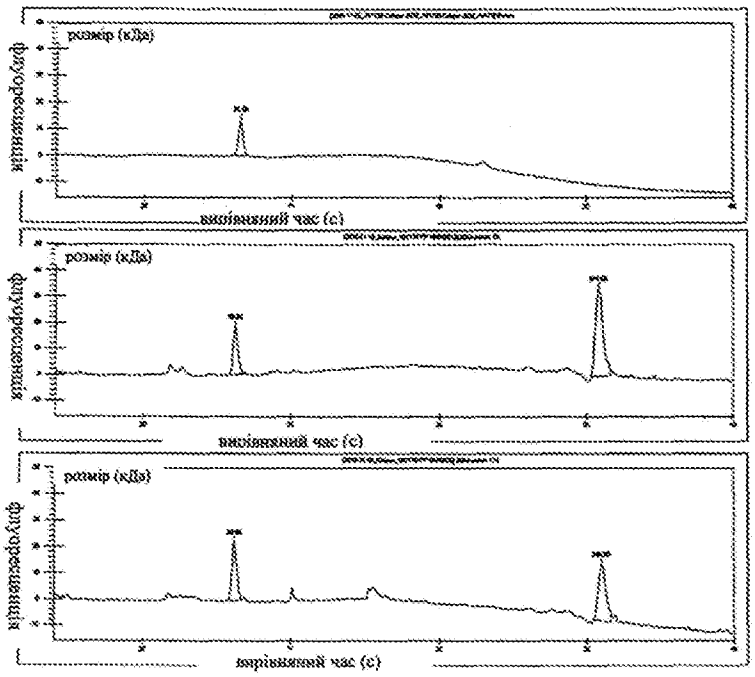
Фіг. 39Б

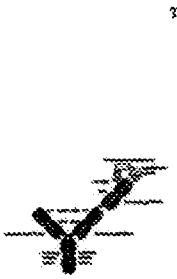


Фіг. 40



Фіг. 41А



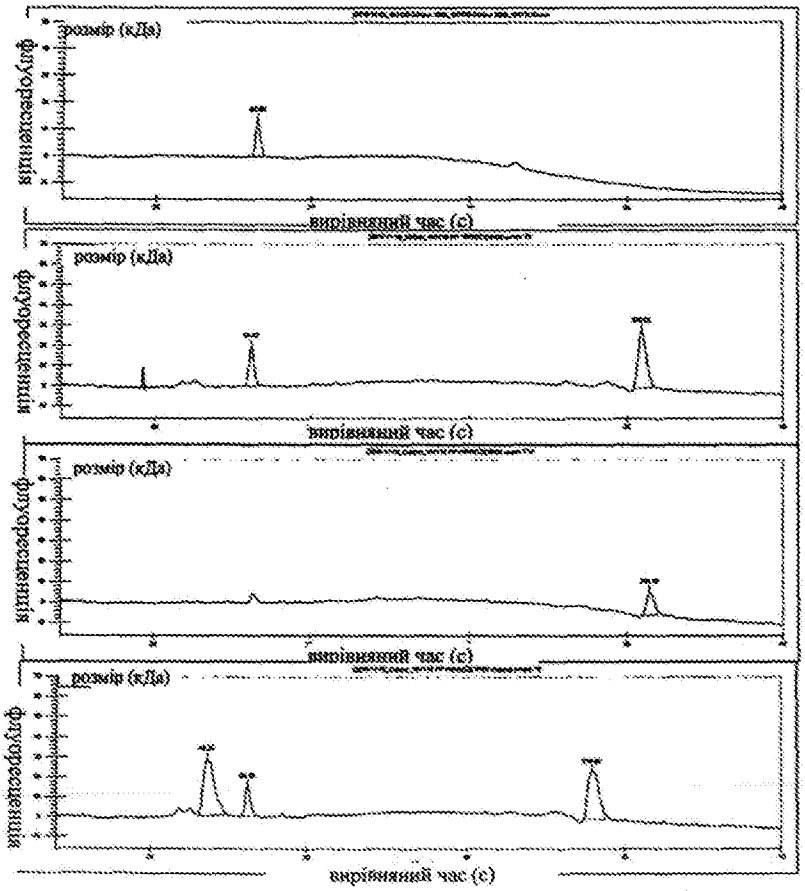


тільки сироватка, день 0

8364 в сироватці, день 0

8364 в сироватці, День 14

Фіг. 41Б



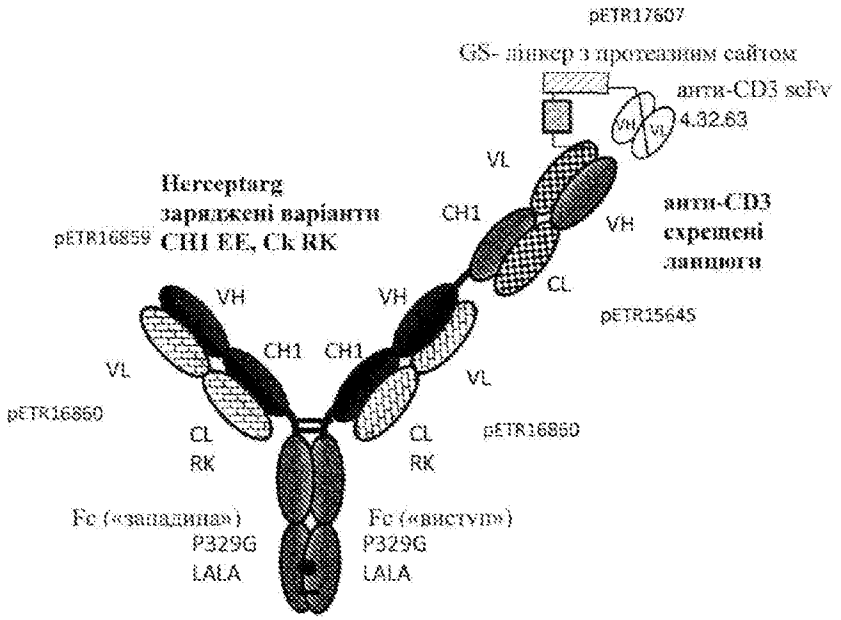
тільки сироватка, день 0

8408 в сироватці, день 0

8408 в сироватці, день 14

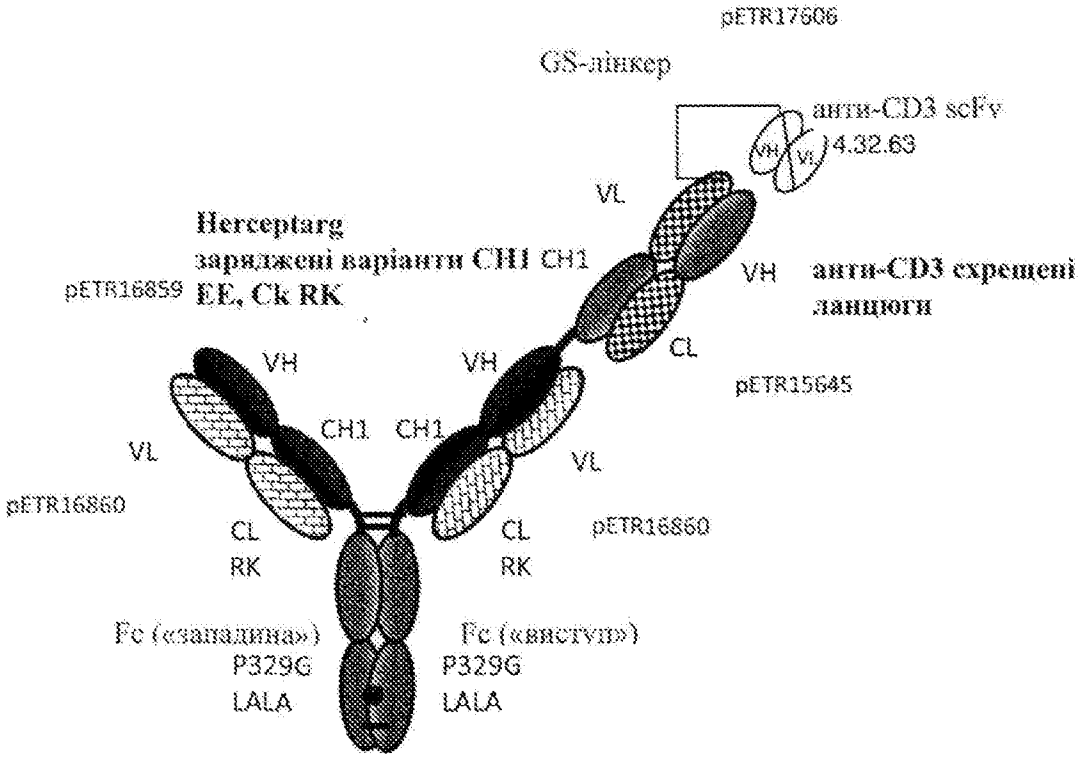
8408, розщеплена rh-матрилазою (фірма R&D Systems)

Фіг. 41В



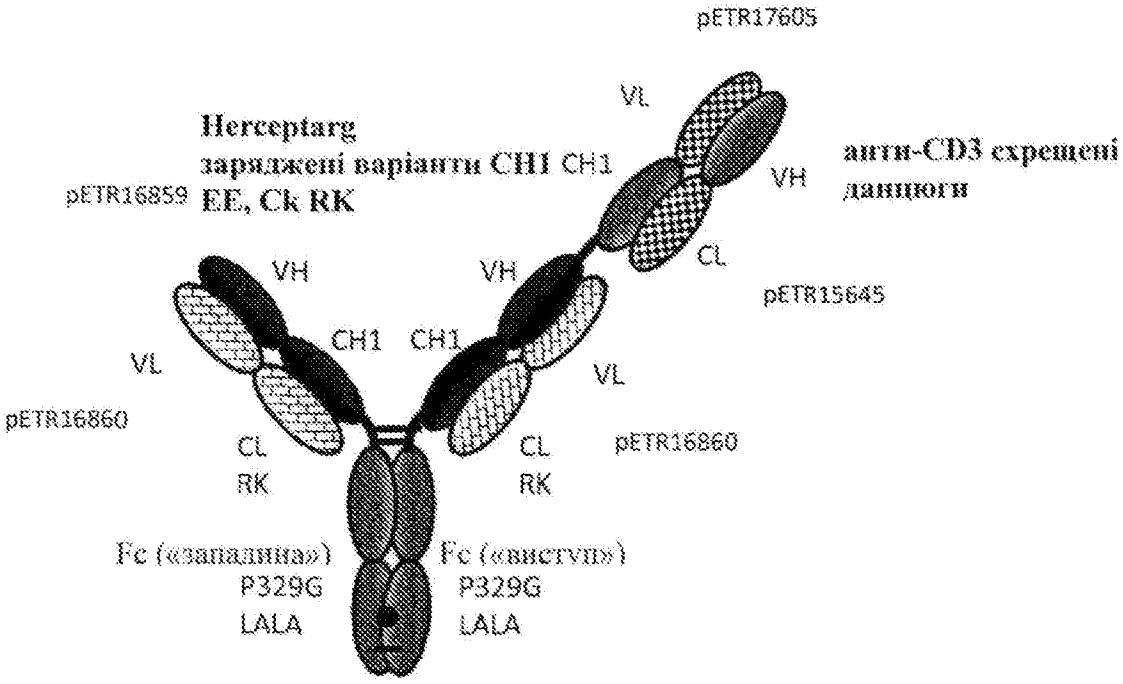
ID 8955

Фіг. 42А



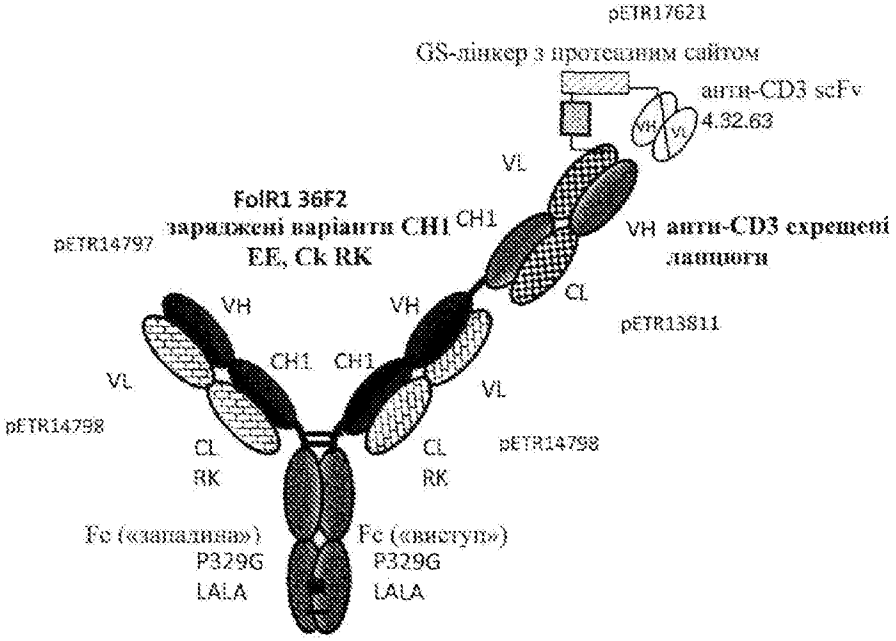
ID 8957

Фіг. 42Б



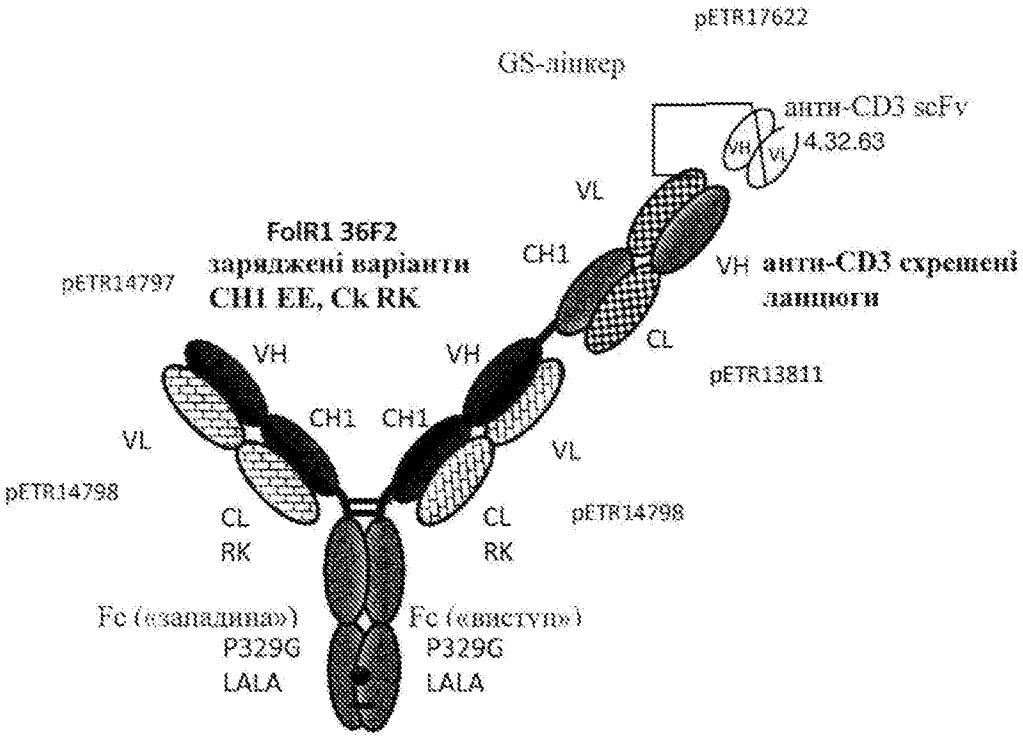
ID 8959

Фіг. 42В



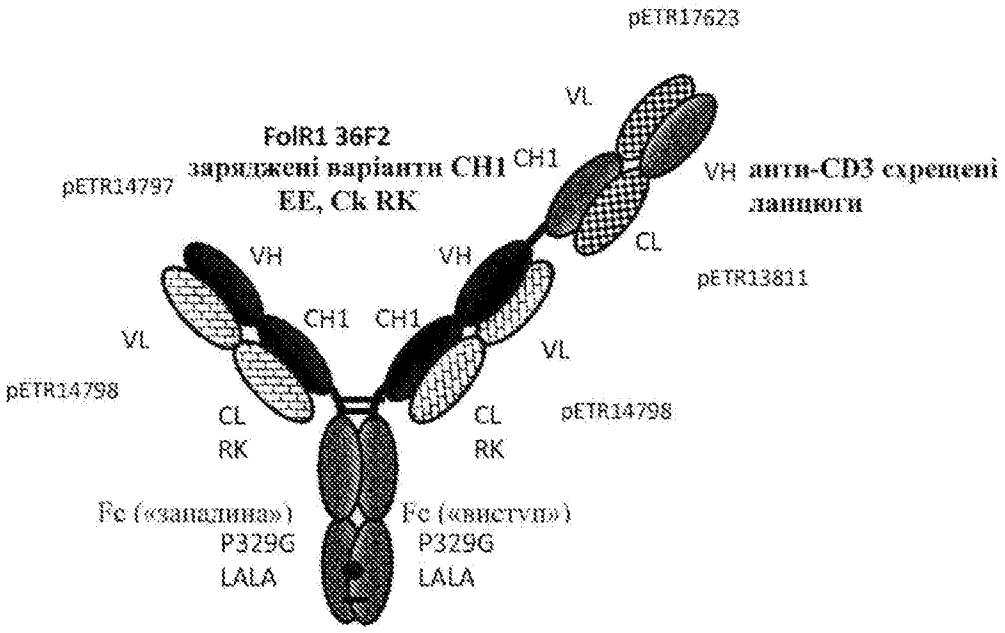
ID 8997

Фіг. 42Г



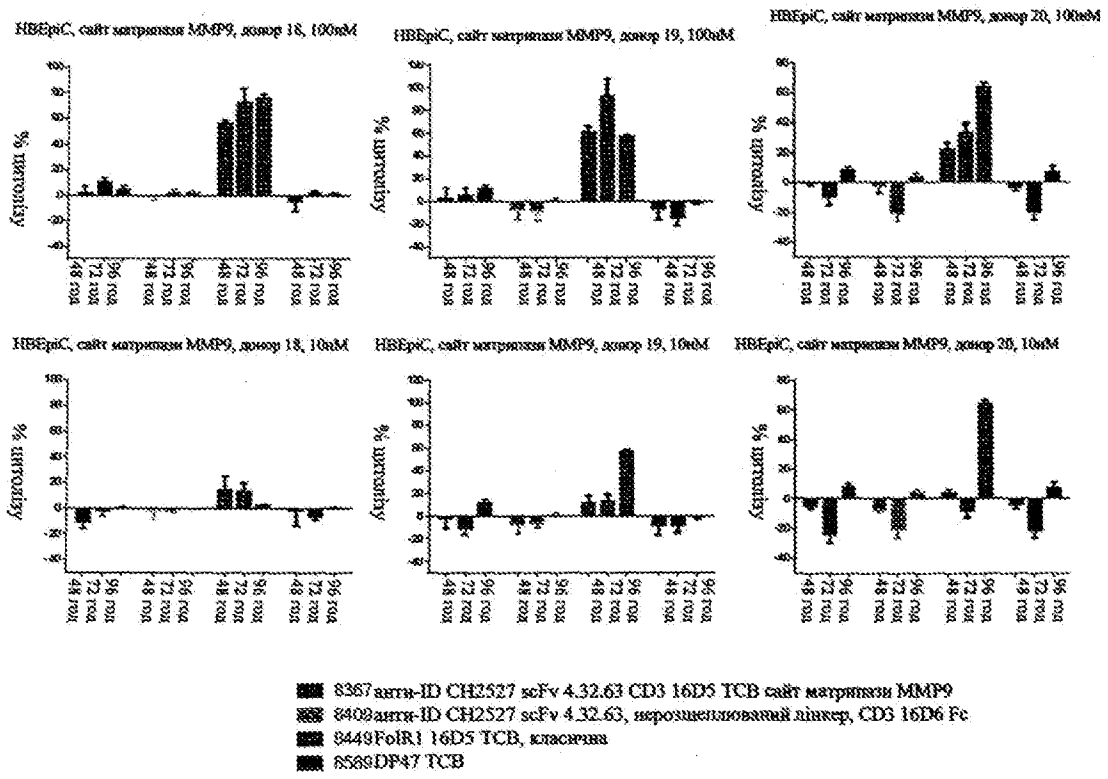
ID 8998

Фіг. 42Д

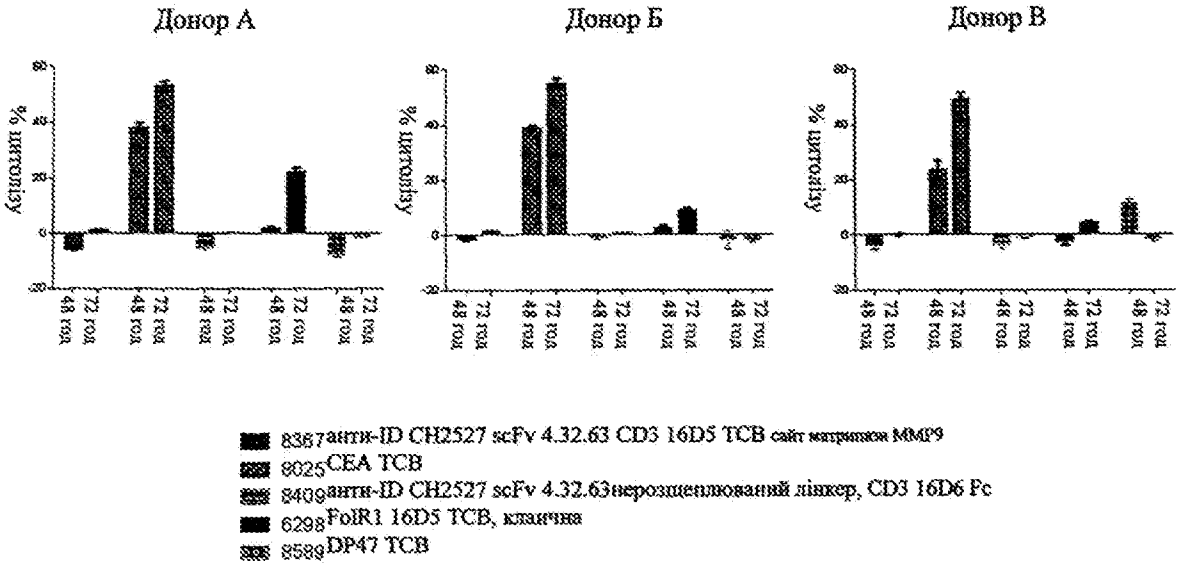


ID 8996

Фіг. 42Е



Фіг. 43



Фіг. 44

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

ДО "Український національний офіс інтелектуальної власності та інновацій", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601