



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122676** (13) **C2**
(51) МПК (2021.01)**C07K 16/28** (2006.01)**C07K 16/46** (2006.01)**A61K 39/395** (2006.01)

A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки:	а 2017 06105	(72) Винахідник(и):	Бакак Маріна (СН),
(22) Дата подання заявки:	17.11.2015		Брюнкер Петер (СН),
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	29.12.2020		Фраймозер-Грундшобер Анне (СН),
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	14194147.6		Хоссе Ральф (СН),
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	20.11.2014		Кляйн Крістіан (СН),
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	EP		Мьосснер Еккехард (СН),
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.01.2018, Бюл.№ 2	(73) Володілець (володільці):	Умана Пабло (СН),
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	28.12.2020, Бюл.№ 24		Вайнцирль Тіна (СН)
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2015/076739, 17.11.2015		(74) Представник:
			Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139
		(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	
			WO 2014151910 A1, 25.09.2014
			WO 2015048272 A1, 02.04.2015
			MEZZANZANICA D. et al. Human ovarian carcinoma lysis by cytotoxic t cells targeted by bispecific monoclonal antibodies: analysis of the antibody components. International journal of cancer, John Wiley & Sons, INC, US, 1988, Vol. 41, no. 4, P. 609 – 615

(54) БІСПЕЦИФІЧНА АНТИГЕНЗВ'ЯЗУВАЛЬНА МОЛЕКУЛА ПРОТИ FOLR1 І CD3, ЩО АКТИВУЄ Т-КЛІТИНИ**(57) Реферат:**

Винахід стосується біспецифічної антигензв'язувальної молекули для активації Т-клітин і перенаправлення їх до специфічних клітин-мішеней. Крім того, у заявці описані полінуклеотиди, що кодують такі біспецифічні антигензв'язувальні молекули, і вектори й клітини-хазяїни, що містять такі полінуклеотиди. У заявці описані також способи одержання біспецифічних антигензв'язувальних молекул, запропонованих у винаході, і способи застосування вказаних біспецифічних антигензв'язувальних молекул для лікування захворювання.

UA 122676 C2

Перелік послідовностей

Дана заявка містить перелік послідовностей, який представлений в електронному вигляді у форматі ASCII і тим самим повністю включений як посилання. Вказана копія у форматі ASCII, створена 9 листопада 2015 р., позначена як 32186_SL.txt і має розмір 445570 байтів.

5 Галузь техніки, до якої належить винахід

Даний винахід стосується в цілому біспецифічних антигензв'язувальних молекул, призначених для активації Т-клітин, насамперед біспецифічних антитіл, мішенню яких є CD3 і фолатний рецептор 1 (FolR1). Крім того, даний винахід стосується полінуклеотидів, які кодують вказані біспецифічні антигензв'язувальні молекули, і векторів і клітин-хазяїнів, що містять вказані полінуклеотиди. Винахід стосується також способів одержання біспецифічних антигензв'язувальних молекул, запропонованих у винаході, і способів застосування таких біспецифічних антигензв'язувальних молекул для лікування захворювання.

Передумови створення винаходу

15 У різних клінічних ситуаціях часто потрібна вибіркова деструкція індивідуальної клітини або певного типу клітин. Наприклад, основною задачею при терапії раку є руйнування саме пухлинних клітин зі збереженням при цьому в інтактному і неушкодженому стані здорових клітин і тканин.

Перспективним підходом для досягнення цієї мети є індукція імунної відповіді проти пухлини, при якій імунні ефektorні клітини, такі як природні клітини-кілери (NK) або цитотоксичні Т-лімфоцити (CTL), атакують і руйнують пухлинні клітини. CTL представляють собою найбільш ефективні ефektorні клітини імунної системи, однак вони не можуть активуватися ефektorним механізмом, опосередковуваним Fc-доменом канонічних терапевтичних антитіл.

20 У цьому плані в останні роки зріс інтерес до біспецифічних антитіл, сконструйованих таким чином, щоб вони зв'язувалися за допомогою одного "плеча" з поверхневим антигеном на клітинах-мішенях, а за допомогою другого "плеча" з активуючим інваріантним компонентом комплексу Т-клітинного рецептора (TCR). Одночасне зв'язування такого антитіла з обома його мішенями повинно приводити до тимчасової взаємодії між клітиною-мішенню й Т-клитиною, викликаючи активацію будь-якої цитотоксичної Т-клітини й наступний лізис клітини-мішені. Таким чином, імунна відповідь переорієнтується на клітини-мішені й не залежить від презентації пептидного антигену клітиною-мішенню або специфічності Т-клітини, що має місце при нормальній обмеженій ГКГС активації CTL. У цьому контексті вирішальне значення має те, що CTL активуються тільки тоді, коли клітина-мішень презентує їм біспецифічне антитіло, тобто має місце імітація імунологічного синапсу. Найбільш переважними є біспецифічні антитіла, для яких не потрібне попереднє кондиціювання або коstimуляція лімфоцитів для того, щоб

35 викликати ефективний лізис клітин-мішеней.

FOLR1 експресується на епітеліальних пухлинних клітинах різного походження, наприклад, клітинах раку яєчника, раку легкі, раку молочної залози, раку нирки, колоректального раку, раку ендометрію. Описано декілька підходів для націлювання на FOLR1 терапевтичних антитіл, таких як фарлетузимаб, кон'югатів антитіло-лікарський засіб, або для візуалізації пухлин при адоптивній Т-клітинній терапії (Kandalafi і ін., J Transl Med.; 10, 3 серпня 2012 р., с. 157. doi: 10.1186/1479-5876-10-157; van Dam і ін., Nat Med.; 17(10), 18 вересня 2011 р., стор. 1315-1319. doi: 10.1038/нм.2472; Clifton та ін., Hum Vaccin.; 7(2), лютий 2011 р., Epub 1 лютого 2011 р.; Kelemen і ін., Int J Cancer.; 119(2), 15 липня 2006 р., стор. 243-150; Vaitilingam і ін., J Nucl Med.; 53(7), липень 2012 р.; Teng і ін., 9(8), серпень 2012 р., стор. 901-908. doi: 10.1517/17425247.2012.694863, Epub 5 липня 2012 р. Було почато декілька спроб спрямованого впливу на позитивні за фолатним рецептором пухлини за допомогою конструкцій, мішенню яких є фолатний рецептор і CD3 (Kranz і ін., Proc Natl Acad Sci U S A.; 92(20), вересень 1995 р., стор. 9057-9061; Roy і ін., Adv Drug Deliv Rev.; 56(8), 29 квітня 2004 р., стор. 1219-1231; Huiting Cui і ін. Biol Chem.; 287(34), 17 серпня 2012 р., стор. 28206-28214; Lamers і ін., Int. J. Cancer. 60(4), 1995, с. 450; Thompson і ін., MAbs.; 1(4), липень-серпень 2009 р., стор. 348-356, Epub 19 липня 2009 р.; Mezzanzanica і ін., Int. J. Cancer, 41, 1988, стор. 609-615. Однак підходи, які здійснювалися дотепер, мають багато недоліків. Молекули, що застосовувалися дотепер, не можна легко й надійно одержувати, оскільки це вимагає здійснення перехресного зшивання хімічним шляхом. Крім того, гібридні молекули не можна одержувати в промисловому масштабі у вигляді людських білків, і для цієї мети необхідно використовувати щурячі, мишині білки й білки з інших видів, які мають значну імуногенність при введенні людині й, таким чином, мають обмежену терапевтичну цінність. Крім того, багато з відомих молекул зберігають здатність зв'язуватися з FcγR.

60 Таким чином, зберігається необхідність у створенні нових біспецифічних антитіл, що мають поліпшені характеристики для спрямованої опосередкованої Т-клітинами імунотерапії. У

даному винаході запропоновані біспецифічні антигензв'язувальні молекули, призначені для спрямованої активації Т-клітин, насамперед, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, придатні для застосування як ефективні і безпечні терапевтичні засоби, які можна легко одержувати й дозувати.

5 Короткий виклад суті винаходу

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить принаймні одну амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34; і

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1).

15 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить перший антигензв'язувальний фрагмент, який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36 і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить
20 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять ідентичні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга й CDR легкого ланцюга. В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент ідентичний до другого антигензв'язувального фрагменту.

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, вказаної в представлених вище варіантах здійснення винаходу, принаймні один із другого й третього антигензв'язувальних фрагментів представляє собою молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, вказана в представлених вище варіантах здійснення винаходу, додатково містить Fc-домен, що складається з першої й другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації. У деяких варіантах здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент і другий антигензв'язувальний фрагмент кожний з'єднаний на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. У деяких варіантах здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента, необов'язково через пептидний лінкер.

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, вказаної в представлених вище варіантах здійснення винаходу, антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), містить принаймні одну амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 18, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), містить принаймні одну амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 56 і SEQ ID NO: 57, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 65. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.

В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), містить принаймні одну амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 і SEQ ID NO: 50, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54. В одному з

варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містить (а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки 1 важкого ланцюга (CDR-H1) SEQ ID NO: 8; (б) амінокислотну послідовність CDR-H2 SEQ ID NO: 9; (в) амінокислотну послідовність CDR-H3 SEQ ID NO: 50; (г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки 1 (CDR-L1) легкого ланцюга SEQ ID NO: 52; (д) амінокислотну послідовність CDR-L2 SEQ ID NO: 53 і (е) амінокислотну послідовність CDR-L3 SEQ ID NO: 54. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51.

В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), містить принаймні одну амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 275 і SEQ ID NO: 315, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містить (а) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки 1 важкого ланцюга (CDR-H1) SEQ ID NO: 16; (б) амінокислотну послідовність CDR-H2 SEQ ID NO: 275; (в) амінокислотну послідовність CDR-H3 SEQ ID NO: 315; (г) амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки 1 легкого ланцюга (CDR-L1) SEQ ID NO: 32; (д) амінокислотну послідовність CDR-L2 SEQ ID NO: 33 і (е) амінокислотну послідовність CDR-L3 SEQ ID NO: 34. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містить домен варіабельного важкого ланцюга (VH), що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 274, і домен варіабельного легкого ланцюга (VL), що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, вказана в представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з людським FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, вказана в представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з людським FolR1 і з FolR1 мавп циномоглус. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, вказана в представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з людським FolR1, FolR1 мавп циномоглус і мишиним FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, вказана в представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з людським FolR1, FolR1 мавп циномоглус, але не зв'язується з мишиним FolR1.

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, вказаної в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, перший антигензв'язувальний фрагмент представляє собою кросовер-молекулу Fab, у якій обмінні або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, вказана в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, містить не більше одного антигензв'язувального фрагмента, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3. В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, перший і другий антигензв'язувальні фрагменти й Fc-домен представляють собою частину молекули імуноглобуліну. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен представляє собою Fc-домен імуноглобуліну IgG-класу, конкретно IgG₁- або IgG₄-підкласу. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен представляє собою людський Fc-домен.

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, вказаної в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, Fc-домен містить модифікацію, яка сприяє асоціації першої й другої субодиниці Fc-домену. В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотний залишок в СН3-доміні першої субодиниці Fc-домену замінений на амінокислотний залишок, що має більший об'єм бокового ланцюга, що створює опуклість на СН3-доміні першої субодиниці, яка може поміщатися в порожнину в СН3-доміні другої субодиниці, а амінокислотний залишок в СН3-доміні другої субодиниці Fc-домену замінений на амінокислотний залишок, що має менший об'єм бокового ланцюга, що створює порожнину в СН3-доміні другої субодиниці, в яку може поміщатися опуклість на СН3-доміні першої субодиниці. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить принаймні одну амінокислотну заміну, яка знижує зв'язування з Fc-рецептором та/або ефекторну функцію в порівнянні з нативним Fc-доміном IgG₁. В одному з варіантів здійснення винаходу кожна

субодиниця Fc-домену містить три амінокислотні заміни, які знижують зв'язування з активуючим Fc-рецептором та/або ефекторну функцію, де вказані амінокислотні заміни представляють собою L234A, L235A і P329G (нумерація за Кеботом). В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор представляє собою Fc γ -рецептор. В одному з варіантів здійснення винаходу ефекторна функція представляє собою антитіло-зумовлену клітиннозалежну цитотоксичність (ADCC).

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, вказаної в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує проліферацію людської CD3-позитивної Т-клітини *in vitro*. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний людською моноклеарною клітиною периферичної крові цитоліз експресуючої FolR1 людської пухлинної клітини *in vitro*. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз експресуючої FolR1 людської пухлинної клітини *in vitro*. В одному з варіантів здійснення винаходу Т-клітина представляє собою CD8-позитивну Т-клітину. В одному з варіантів здійснення винаходу експресуюча FolR1 людська пухлинна клітина представляє собою клітину лінії HeLa, SKOV-3, HT-29 або HRCepiC. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз експресуючої FolR1 людської пухлинної клітини *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить від приблизно 36 пМ до приблизно 39573 пМ, через 24 год. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить приблизно 36 пМ, через 24 год. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить приблизно 178,4 пМ, через 24 год. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить приблизно 134,5 пМ або більше, через 48 год.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, індукує підвищувальну регуляцію експресії на поверхні клітини принаймні одного з CD25 і CD69 на Т-клітині за даними вимірювань методом проточної цитометрії. В одному з варіантів здійснення винаходу Т-клітина представляє собою CD4-позитивну Т-клітину або CD8-позитивну Т-клітину. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з людським FolR1 з уявною величиною K_D, що становить від приблизно 5,36 пМ до приблизно 4 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з FolR1 людини й мавп циномолгус із уявною величиною K_D, що становить приблизно 4 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з мишиним FolR1 з уявною величиною K_D, що становить приблизно 1,5 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з людським FolR1 з величиною K_D, що характеризує одновалентне зв'язування, яка становить приблизно 1000 нМ.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, має специфічність у відношенні FolR1 і не зв'язується з FolR2 або FolR3. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, характеризується афінністю (одновалентне зв'язування), що становить 1мкМ або більш. В одному з варіантів здійснення винаходу афінність до людського FolR1 становить приблизно 1,4мкМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, характеризується авідністю (двовалентне зв'язування), що становить приблизно 1-100 нМ або менше. В одному з варіантів здійснення винаходу авідність становить приблизно 10 нМ або менше. В одному з варіантів здійснення винаходу авідність становить 10 нМ.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що

активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з FolR1, що експресується на людській пухлинній клітині. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, зв'язується з конформаційним епітопом на людському FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, не зв'язується з людським фолатним рецептором 2 (FolR2) або людським фолатним рецептором 3 (FolR3). В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислоти з 25 по 234 людського FolR1 (SEQ ID NO: 227). В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу фрагмент, що зв'язує антиген FolR1, зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 227, 230 і 231, і при цьому зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент не зв'язується з поліпептидом FolR, що містить амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 228 і 229.

Іншим об'єктом винаходу є біспецифічне антитіло, що містить а) перший антигензв'язувальний сайт, який конкурує за зв'язування з людським FolR1 з референс-антитілом, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 49, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 51; і б) другий антигензв'язувальний сайт, який конкурує за зв'язування з людським CD3 з референс-антитілом, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 36, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 31, де конкуренцію за зв'язування оцінюють методом поверхневого плазмонного резонансу.

Іншим об'єктом винаходу є біспецифічне антитіло, що містить а) перший антигензв'язувальний сайт, який конкурує за зв'язування з людським FolR1 з референс-антитілом, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 274, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 31; і б) другий антигензв'язувальний сайт, який конкурує за зв'язування з людським CD3 з референс-антитілом, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 36, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 31, де конкуренцію за зв'язування оцінюють методом поверхневого плазмонного резонансу.

Іншим об'єктом винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить перший антигензв'язувальний фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і другий антигензв'язувальний фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), де біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з тим же самим епітопом на людському FolR1, що й перше референс-антитіло, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 49, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 51; й де біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з тим же самим епітопом на людському CD3, що й друге референс-антитіло, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 36, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 31.

Іншим об'єктом винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить перший антигензв'язувальний фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і другий антигензв'язувальний фрагмент, який має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), де біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з тим же самим епітопом на людському FolR1, що й перше референс-антитіло, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 274, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 31 й де біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з тим же самим епітопом на людському CD3, що й друге референс-антитіло, що містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), який має SEQ ID NO: 36, і варіабельний домен легкого ланцюга, який має SEQ ID NO: 31.

Інший об'єкт винаходу стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагменту, яке/який конкурує за зв'язування з людським FolR1 з антитілом, яке містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), що має SEQ ID NO: 274, і варіабельний домен легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31, де конкуренцію за зв'язування оцінюють методом поверхневого плазмонного резонансу.

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, де антигензв'язувальна молекула містить перший, другий, третій, четвертий й п'ятий поліпептидні ланцюги, які утворюють перший, другий і третій антигензв'язувальний фрагменти, де перший антигензв'язувальний фрагмент має здатність зв'язуватися з CD3, а другий і третій антигензв'язувальний фрагмент кожний має здатність зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), де а) перший й другий поліпептидні ланцюги містять у напрямку від аміно (N)-кінця до карбоксильного (C)-кінця VLD1 і CLD1; б) третій поліпептидний ланцюг містить у напрямку від N-кінця до C-кінця VLD2 і CH1D2; в) четвертий поліпептидний ланцюг містить у напрямку від N-кінця до C-кінця VHD1, CH1D1, CH2D1 і CH3D1; г) п'ятий поліпептидний ланцюг містить VHD1, CH1D1, VHD2, CLD2, CH2D2 і CH3D2; де VLD1 представляє собою варіабельний домен першого легкого ланцюга, VLD2 представляє собою варіабельний домен другого легкого ланцюга, CLD1 представляє собою константний домен першого легкого ланцюга, CLD2 представляє собою константний домен другого легкого ланцюга, VHD1 представляє собою варіабельний домен першого важкого ланцюга, VHD2 представляє собою варіабельний домен другого важкого ланцюга, CH1D1 представляє собою константний домен 1 першого важкого ланцюга, CH1D2 представляє собою константний домен 1 другого важкого ланцюга, CH2D1 представляє собою константний домен 2 першого важкого ланцюга, CH2D2 представляє собою константний домен 2 другого важкого ланцюга, CH3D1 представляє собою константний домен 3 першого важкого ланцюга, і CH3D2 представляє собою константний домен 3 другого важкого ланцюга.

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, (I) третій поліпептидний ланцюг і VHD2 і CLD2 п'ятого поліпептидного ланцюга утворюють перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з CD3; (II) перший поліпептидний ланцюг і VHD1 і CH1D1 четвертого поліпептидного ланцюга утворюють другий зв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з FolR1; і (III) другий поліпептидний ланцюг і VHD1 і CH1D1 п'ятого поліпептидного ланцюга утворюють третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з FolR1. В одному з варіантів здійснення винаходу, CH2D1, CH3D1, CH2D2 і CH3D2 утворюють Fc-домен імуноглобуліну IgG-класу. В одному з варіантів здійснення винаходу, Fc-домен представляє собою людський Fc-домен. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить модифікацію, яка сприяє асоціації першої й другої субодиниці Fc-домену. В одному з варіантів здійснення винаходу CH3D2 містить амінокислотний залишок, що має боковий ланцюг більшого об'єму, який може поміщатися в порожнину в CH3D1. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить принаймні одну амінокислотну заміну, яка знижує зв'язування з Fc-рецептором та/або ефекторну функцію в порівнянні з нативним Fc-доменом IgG₁. В одному з варіантів здійснення винаходу кожна субодиниця Fc-домену містить три амінокислотні заміни, які знижують принаймні одну з таких функцій, як зв'язування з Fc-рецептором і ефекторна функція, де вказані амінокислотні заміни представляють собою L234A, L235A і P329G (нумерація за Кеботом). В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор представляє собою Fcγ-рецептор. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує проліферацію людської CD3-позитивної Т-клітини *in vitro*. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний людською мононуклеарною клітиною периферичної крові цитоліз експресуючої FolR1 людської пухлинної клітини *in vitro*. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз експресуючої FolR1 людської пухлинної клітини *in vitro*. В одному із вказаних варіантів здійснення винаходу експресуюча FolR1 людська пухлинна клітина представляє собою клітину лінії HeLa, SKOV-3, HT-29 або HRCepC. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить від приблизно 36 пМ до приблизно 39573 пМ, через 24 год. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить приблизно 36 пМ, через 24 год. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить приблизно 178,4 пМ, через 24 год. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною

цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FolR1, *in vitro*, що характеризується величиною EC₅₀, що становить приблизно 134,5 або більше, через 48 год. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукуює підвищувальну регуляцію експресії на поверхні клітини принаймні одного з CD25 і CD69 на Т-клітині за даними вимірювань методом проточної цитометрії. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу Т-клітина представляє собою CD4-позитивну Т-клітину або CD8-позитивну Т-клітину. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з людським FolR1 з уявною величиною K_D, що становить від приблизно 5,36 пМ до приблизно 4 нМ. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з FolR1 людини й мавп циномоглус із уявною величиною K_D, що становить приблизно 4 нМ. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з мишиним FolR1 з уявною величиною K_D, що становить приблизно 1,5 нМ. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з людським FolR1 з величиною K_D, що характеризує одновалентне зв'язування, яка становить приблизно 1000 нМ. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з FolR1, що експресується на людській пухлинній клітині. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з конформаційним епітопом на людському FolR1. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, не зв'язується з людським фолатним рецептором 2 (FolR2) або людським фолатним рецептором 3 (FolR3). В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислоти з 25 по 234 людського FolR1 (SEQ ID NO:227). В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 227, 230 і 231, і при цьому зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент не зв'язується з поліпептидом FolR, що містить амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 228 і 229. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представляє собою гуманізовану або химерну молекулу. В одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу VHD2 і CH1D1 зчеплені за допомогою пептидного лінкера.

В одному із вказаних вище варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, перший й другий поліпептидні ланцюга містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 230. В одному із вказаних вище варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, третій поліпептидний ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86. В одному із вказаних вище варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, четвертий поліпептидний ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 309. В одному із вказаних вище варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, п'ятий поліпептидний ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 308. В одному із вказаних вище варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, перший й другий поліпептидні ланцюга містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 230; третій поліпептидний ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; четвертий поліпептидний ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 309; і п'ятий поліпептидний ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 308.

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 308. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представлена в вказаному вище варіанті здійснення винаходу додатково містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 230 і SEQ ID NO: 86.

Одним з об'єктів винаходу є виділений поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 308. Одним з об'єктів винаходу є виділений поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 309.

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 276. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представлена в вказаному вище варіанті здійснення винаходу додатково містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 277 і SEQ ID NO: 35.

Одним з об'єктів винаходу є виділений поліпептид, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 277. Одним з об'єктів винаходу є виділений поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 276.

Одним з об'єктів винаходу є виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, представлену в одному з описаних вище варіантів здійснення винаходу. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 169. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 246. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 247. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 97. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 198.

В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 287. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 288. В одному з варіантів винаходу запропонований виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, що містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 289.

Одним з об'єктів винаходу є виділений поліпептид, який кодується полінуклеотидом, представленим у вказаному вище варіанті здійснення винаходу. Іншим об'єктом винаходу є вектор, насамперед експресійний вектор, що містить полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, представлену в одному з варіантів здійснення винаходу, вказаних у даному описі. Іншим об'єктом винаходу є клітина-хазяїн, що містить полінуклеотид або вектор, представлений у будь-якому одному з варіантів здійснення винаходу, вказаних у даному описі.

Одним з об'єктів винаходу є спосіб одержання біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і антигеном клітини-мішені, що полягає в тому, що здійснюють стадії, на яких а) культивують клітину-хазяїна, представлену в вказані вище варіантах здійснення винаходу, в умовах, придатних для експресії біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, і б) виділяють антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину.

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, отримана способом, вказаним у представленому вище варіанті здійснення винаходу.

Одним з об'єктів винаходу є фармацевтична композиція, що містить біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, представлену в будь-якому одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, і фармацевтично прийнятний носій. Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представлена в одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, або фармацевтична композиція, представлена в одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, призначена для застосування як лікарського засобу.

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представлена в одному із представлених вище варіантів здійснення винаходу, або фармацевтична композиція, представлена в одному із представлених вище варіантів здійснення винаходу, призначена для застосування при лікуванні захворювання в індивідуума, який цього потребує. У деяких варіантах здійснення винаходу захворювання представляє собою рак. Одним з об'єктів винаходу є застосування біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, представленої в одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, для приготування лікарського засобу, призначеного для лікування захворювання в індивідуума, який цього потребує.

Одним з об'єктів винаходу є спосіб лікування захворювання в індивідуума, що полягає в тому, що вказаному індивідуумові вводять у терапевтично ефективній кількості композицію, що містить біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, представлену в одному із вказаних вище варіантах здійснення винаходу, у фармацевтично прийнятній формі. У деяких варіантах здійснення винаходу вказане захворювання представляє собою рак.

Одним з об'єктів винаходу є спосіб індукції лізису клітини-мішені, що полягає в тому, що

приводять у контакт клітину-мішень із біспецифічною антигензв'язувальною молекулою, що активує Т-клітину, представленою в одному із вказаних вище варіантів здійснення винаходу, у присутності Т-клітини.

Одним з об'єктів винаходу є винахід, представлений вище в даному описі.

5 Короткий опис креслень

На кресленнях показане:

На фіг. 1А-І – проілюстровані приклади конфігурацій біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітину (ТСВ), запропонованих у винаході. Усі конструкції за винятком капа-лямбда-формату (представленого на фіг. 1І) мають мутації Р329G LALA і містять "knob-into-hole"-Fc-фрагменти з модифікаціями типу "knob-into-hole". На фіг. 1А проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 2+1 інвертована (загальний легкий ланцюг)". FolR1-зв'язувальний агент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену, що містить модифікацію, що приводить до утворення "виступу". Ці конструкції не є "схрещеними" і мають той самий легкий ланцюг, що зустрічається три рази (містять три однакові) VLCL. На фіг. 1Б проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 1+1 "голова-до хвоста" (загальний легкий ланцюг)". Ці конструкції не є "схрещеними" і мають той самий легкий ланцюг, що зустрічається два рази VLCL. На фіг. 1В проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 1+1 класична (загальний легкий ланцюг)". Ці конструкції не є "схрещеними" і мають той самий легкий ланцюг, що зустрічається два рази VLCL. На фіг. 1Г проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 2+1 класична (загальний легкий ланцюг)". CD3-зв'язувальний агент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену, що містить модифікацію, що приводить до утворення "виступу". Ці конструкції не є "схрещеними" і мають той самий легкий ланцюг, що зустрічається три рази VLCL. На фіг. 1Д проілюстрована конструкція "FolR1 TCB 2+1 CrossFab класична". Ці конструкції містять ланцюг Сk-VH для CD3-зв'язувального агента замість канонічного ланцюга CH1-VH. На фіг. 1Е проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 2+1 CrossFab інвертована". Ці конструкції містять ланцюг Сk-VH для CD3-зв'язувального агента замість канонічного ланцюга CH1-VH. FolR1-зв'язувальний агент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену, що містить модифікацію, що приводить до утворення "виступу". На фіг. 1Ж проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 1+1 CrossFab "голова-до хвоста"». Ці конструкції містять ланцюг Сk-VH для CD3-зв'язувального агента замість канонічного ланцюга CH1-VH. На фіг. 1З проілюстрована конструкція "FolR1-TCB 1+1 Crossfab класична". Ці конструкції містять ланцюг Сk-VH для CD3-зв'язувального агента замість канонічного ланцюга CH1-VH. На фіг. 1І проілюстрований капа-лямбда-формат антитіла до CD3/FolR1. Ці конструкції містять "схрещений" загальний легкий ланцюг VLCH1 і один "схрещений" ланцюг VHCL, специфічний у відношенні CD3, і один "схрещений" ланцюг VHCL, специфічний у відношенні FolR1;

на фіг. 2А-В – графіки, на яких узагальнені дані про зв'язування FolR1-зв'язувальних агентів у вигляді IgG із клітинами HeLa. Зв'язування нових створених FolR1-зв'язувальних агентів з FolR1, експресованих на клітинах HeLa, оцінювали за допомогою проточної цитометрії. Зв'язані антитіла виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла;

на фіг. 3А-Б – графіки, на яких узагальнені дані про специфічність FolR1-зв'язувальних агентів у відношенні FolR1. Зв'язування IgG до FolR1 із клітинами HEK, короткочасно трансфектованими або FolR1, або FolR2, аналізували за допомогою проточної цитометрії для ідентифікації клонів, які специфічно зв'язувалися з FolR1 і не зв'язувалися з FolR2. Антитіла виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла;

на фіг. 4А-Б – графіки, на яких узагальнені дані про крос-реактивності FolR1-зв'язувальних агентів з суFolR1. Крос-реактивність антитіл до FolR1 з супоFolR1 аналізували на клітинах HEK, короткочасно трансфектованих суFolR1, за допомогою проточної цитометрії. Антитіла виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла;

на фіг. 5 – графік, що ілюструє інтерналізацію TCB до FolR1 (FolR1-TCB) після зв'язування. Інтерналізацію чотирьох FolR1-TCB після зв'язування з FolR1 тестували на клітинах HeLa. FolR1-TCB, що залишилися на поверхні, виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла в вказані моменти часу після інкубації при 37 °С. Розраховували відсоток інтерналізації;

на фіг. 6А-Д – графіки, на яких узагальнені дані про зв'язування антитіл до FolR1 у вигляді IgG із клітинами, що характеризуються різними рівнями експресії FolR1. Зв'язування IgG 9D11, 16D5 і Mov19 з пухлинними клітинами, що характеризуються різними рівнями експресії FolR1, аналізували за допомогою проточної цитометрії. IgG DP47 включали як контроль ізотипу, а

MKN-45 включали як FolR1-негативну клітинну лінію. Антитіла виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла;

на фіг. 7А-М – графіки, на яких узагальнені дані про опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HT-29 і SKOV3. FolR1-TCB застосовували для тестування опосередкованого Т-клітинами цитолізу пухлинних клітин HT-29 і SKOV3 і підвищувальної регуляції маркера активації на Т-клітинах після цитолізу. На фіг. 7А-Г представлені дані про опосередковуваний Т-клітинами цитолізу клітин HT-29 і SKOV3 у присутності FolR1-TCB 19D11 і FolR1-TCB 16D5, який оцінювали за вивільненням ЛДГ через 24 і 48 год. TCB DP47 включали як негативний контроль. Після інкубації протягом 48 год. оцінювали підвищувальну регуляцію маркерів активації CD25 і CD69 на CD8-Т-клітинах і CD4-Т-клітинах після цитолізу пухлинних клітин SKOV3 (фіг. 7Е-3) або HT-29 (фіг. 7И-М) за допомогою проточної цитометрії;

на фіг. 8 – графік, що демонструє відсутність зв'язування антитіл до FolR1 (анти-FolR1) з еритроцитами. Еритроцити виявляли за допомогою дискримінаційного вікна як CD235a-позитивну популяцію й зв'язування IgG 9D11, IgG 16D5, IgG Mov19 і IgG DP47 із вказаною популяцією виявляли за допомогою проточної цитометрії. Антитіла виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла;

на фіг. 9А-Г – графіки, на яких представлено узагальнення даних про підвищувальну регуляцію маркера активації в цільній крові. Підвищувальну регуляцію маркерів активації CD25 і CD69 на CD4-Т-клітинах і CD8-Т-клітинах через 24 год. після додавання FolR1-TCB 9D11, FolR1-TCB 16D5, FolR1-TCB Mov19 і TCB DP47 аналізували за допомогою проточної цитометрії;

на фіг. 10 – зв'язування аглікозилованих варіантів (a-glyco-варіантів) TCB 9D11 із клітинами HeLa. Зв'язування a-glyco-варіантів FolR1-TCB 9D11 із клітинами HeLa порівнювали зі зв'язуванням вихідної TCB 9D11 на клітинах HeLa. Антитіла виявляли з використанням флуоресцентно міченого вторинного антилюдського антитіла й зв'язування оцінювали за допомогою проточної цитометрії;

на фіг. 11А-Е – графіки, на яких узагальнені дані про опосередковуваний Т-клітинами цитолізу пухлинних клітин з використанням а-гліко-варіантів FolR1-TCB 9D11. a-glyco-варіанти FolR1-TCB 9D11 застосовували для тестування опосередкованого Т-клітинами цитолізу пухлинних клітин SKOV3, MKN-45 (у якості FolR1-негативного контролю) (фіг. 11А-Г) і HT-29 (фіг. 11Д-Е) у порівнянні із цитолізом при використанні вихідної FolR1-TCB 9D11. Як реєстровані дані використовували вивільнення ЛДГ через 24 і 48 год.;

на фіг. 12А-Ш - графіки, на яких узагальнені дані про опосередковуваний Т-клітинами цитолізу первинних епітеліальних клітин. Первинні епітеліальні клітини з дуже низькими рівнями FolR1 застосовували для тестування опосередкованого Т-клітинами цитолізу з використанням FolR1-TCB 16D5 і FolR1-TCB 9D11, TCB DP47 включали як негативний контроль, а клітини HT29 включали як позитивний контроль. На фіг. 12А-З представлені дані про вивільнення ЛДГ із людських ретинальних пігментних клітин (HRP), людських кортикальних клітин нирки (HRC), людських бронхіальних клітин (HB) і HT29-клітин, виміряного через 24 і 48 год. Підвищувальну регуляцію маркерів активації CD25 і CD69 на CD4-Т-клітинах і CD8-Т-клітинах після цитолізу HRP (фіг. 12И-М), HRC (фіг. 12Н-Р), HB (фіг. 12С-Ф) і HT29 (фіг. 12Х-Ш) оцінювали через 48 год. за допомогою проточної цитометрії;

на фіг. 13А-В – порівняння різних форматів TCB, що містять 16D5. Для чотирьох різних форматів TCB, що містять FolR1-зв'язувальний агент 16D5, представлене порівняння результатів оцінки зв'язування із клітинами HeLa (фіг. 13А), опосередкованого Т-клітинами цитолізу клітин SKOV3 через 24 і 48 год. (фіг. 13Б) і підвищувальної регуляції маркерів активації CD25 і CD69 на CD4-Т-клітинах і CD8-Т-клітинах через 48 год. після цитолізу (фіг. 13В);

на фіг. 14А-В - порівняння різних форматів TCB, що містять 9D11. Для трьох різних форматів TCB, що містять FolR1-зв'язувальний агент 9D11, представлене порівняння результатів оцінки зв'язування із клітинами (А), опосередкованого Т-клітинами цитолізу клітин SKOV3 через 24 і 48 год. (Б) і підвищувальної регуляції маркерів активації CD25 і CD69 на CD4-Т-клітинах і CD8-Т-клітинах через 48 год. після цитолізу (В);

на фіг. 15 – ФК-профіль FOLR1-TCB, отриманий на мишах лінії NOG для трьох різних доз;

на фіг. 16 – ілюстрація протоколу експерименту з вивчення ефективності FOLR1-TCB;

на фіг. 17А-Б – криві росту пухлини. На фіг. 17А представлені середні величини об'ємів пухлини й значення СКВ для різних груп обробки. На фіг. 17Б представлені графіки росту пухлини для однієї миші у всіх групах обробки. Наведені величини TGI (інгібування росту пухлини), що представляють собою виражене у відсотках відношення середнього об'єму пухлини до відповідної до величини в групі, обробленої наповнювачем;

на фіг. 18 – маси пухлин після закінчення досліджу;

на фіг. 19А-Б – результати FACS-аналізу інфільтруючих пухлина Т-клітин у день досліджу 32.

Суспензії одиничних клітин пухлини фарбували антитілом до людського CD3/CD4/CD8 і аналізували за допомогою проточної цитометрії (фіг. 19А). На фіг. 19Б представлені середні величини кількості Т-клітин на мг пухлинної тканини й значення СКВ для різних груп обробки;

на фіг. 20А-Б – результати FACS-аналізу активації/дегрануляції Т-клітин і секреції цитокінів у день досліду 32. Інфільтруючі пухлину CD4⁺ (фіг. 20А) і CD8⁺ (фіг. 20Б) Т-клітини фарбували для виявлення цитокінів, маркерів активації й дегрануляції. Представлені середні величини кількості Т-клітин на мг пухлинної тканини й значення СКВ для різних груп обробки;

на фіг. 21А-Б – відсоток лізису пухлини. Клітини SKOV3 інкубували з РВМС у присутності або ТСВ до капа-лямбда-FolR1, або ТСВ DP47. Через 24 год. (фіг. 21А) і 48 год. (фіг. 21Б) оцінювали цитоліз пухлинних клітин на основі вимірювання вивільнення ЛДГ;

на фіг. 22А-Г – дані, що ілюструють підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 на CD4-Т-клітинах. Клітини SKOV3 інкубували з РВМС у присутності або ТСВ до капа-лямбда-FolR1, або ТСВ DP47. Через 48 год. оцінювали підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 на CD4-Т-клітинах (фіг. 22А-Б) і CD8-Т-клітинах (фіг. 22В-Г) за допомогою проточної цитометрії;

на фіг. 23А-Б – відсоток лізису клітин. Представлені дані про цитоліз клітин SKOV-3 (середній рівень FolR1) Т-клітинами, індукованому ТСВ 36F2, ТСВ Mov19 і ТСВ 21A5 після інкубації протягом 24 год. (фіг. 23А) і 48 год. (фіг. 23Б) (Е:Т=10:1, ефекторні клітини являли собою людські РВМС);

на фіг. 24А-В - дані про цитоліз людських пухлинних клітин HeLa (високий рівень FolR1) (фіг. 24А), SKOV-3 (середній рівень FolR1) (фіг. 24Б) і HT-29 (низький рівень FolR1) (фіг. 24В) Т-клітинами, індукованому ТСВ 36F2, ТСВ 16D5, 16D5 у форматі "ТСВ класична", 16D5 у форматі "ТСВ 1+1" і 16D5 у форматі "ТСВ HT (голова-до хвоста)" (Е:Т=10:1, ефекторні клітини являли собою людські РВМС, час інкубації 24 год.). ТСВ DP47 включали як незв'язувальний контроль;

на фіг. 25А-В – дані про підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 на людських CD8⁺ (фіг. 25А, Б) і CD4⁺ (фіг. 25В), Т-клітинах після опосередкованого Т-клітинами цитолізу клітин HeLa (високий рівень FolR1) (фіг. 25А), клітин SKOV-3 (середній рівень FolR1) (фіг. 25Б) і клітин HT-29 (низький рівень FolR1) (фіг. 25В) (Е:Т=10:1, інкубація протягом 48 год.), індукований ТСВ 36F2, ТСВ 16D5 й ТСВ DP47 (незв'язувальний контроль)

на фіг. 26А-Е - дані про цитоліз Т-клітинами людських клітин кортикального ниркового епітелію (фіг. 26А, Б людських клітин ретинального пігментного епітелію (фіг. 26В, Д) і клітин HT-29 (фіг. 26Д, Е), індукованому ТСВ 36F2, ТСВ 16D5 і ТСВ DP47, після інкубації протягом 24 год. (фіг. 26А, В, Д) і 48 год. (фіг. 26Б, Г, Е) (Е:Т=10:1, ефекторні клітини являли собою людські РВМС);

на фіг. 27 – таблиця, у якій узагальнені результати кількісної оцінки сайтів зв'язування FolR1 на різних лініях здорових і ракових клітин;

на фіг. 28А-Б – дані про зв'язування ТСВ 16D5 і її відповідних отриманих шляхом видалення сайтів деамідування CD3 варіантів ТСВ 16D5 N100A і ТСВ 16D5 S100aA і ТСВ 9D11 і її отриманих шляхом видалення сайтів деамідування варіантів ТСВ 9D11 N100A і ТСВ 9D11 S100aA з людським CD3, експресованих на Т-клітинах лінії Jurkat;

на фіг. 29А-Б - дані про цитоліз Т-клітинами людських пухлинних клітин SKOV-3 (середній рівень FolR1), індукований ТСВ 16D5 і її відповідними отриманими шляхом видалення сайтів деамідування CD3 варіантами ТСВ 16D5 N100A і ТСВ 16D5 S100aA (фіг. 29А) і ТСВ 9D11 і її отриманими шляхом видалення сайтів деамідування варіантами ТСВ 9D11 N100A і ТСВ 9D11 S100aA (фіг. 29В) (Е:Т=10:1, ефекторні клітини являли собою людські РВМС, час інкубації 24 год.);

на фіг. 30А-Б - дані про цитоліз Т-клітинами людських пухлинних клітин HT-29 (низький рівень FolR1), індукований ТСВ 16D5 і її відповідними отриманими шляхом видалення сайтів деамідування CD3 варіантами ТСВ 16D5 N100A і ТСВ 16D5 S100aA (фіг. 30А) і ТСВ 9D11 і її отриманими шляхом видалення сайтів деамідування варіантами ТСВ 9D11 N100A і ТСВ 9D11 S100aA (фіг. 30Б) (Е:Т=10:1, ефекторні клітини являли собою людські РВМС, час інкубації 24 год.);

на фіг. 31А-В – результати вимірювань середньої інтенсивності флуоресценції й лізису пухлинних клітин;

на фіг. 32А-Д – дані про зв'язування ТСВ 36F2, ТСВ 16D5 і варіантів 16D5 HC/LC з людським FolR1, експресованих на клітинах HeLa;

на фіг. 33 - дані про зв'язування ТСВ 36F2, ТСВ 16D5 і двох варіантів 16D5 зі зниженою афінністю ТСВ 16D5 W96Y/D52E і ТСВ 16D5 G49S/S93A з людським FolR1 на клітинах HeLa;

на фіг. 34А-Д - дані про зв'язування ТСВ 36F2, ТСВ 16D5 і варіантів 16D5 HC/LC з людським FolR1, експресованих на клітинах HT-29;

на фіг. 35А-Г – дані про зв'язування, що мають проміжну афінність FolR1-зв'язувальних

агентів (TCB 6E10, TCB 14B1 і TCB 9C7), TCB 16D5 і TCB 36F2 із клітинами HEK293, що експресують або людський, або мишиний FolR1 або FolR2;

на фіг. 36A-E - дані про цитоліз Т-клітинами людських пухлинних клітин HeLa (високий рівень експресії FolR1), SKOV-3 (середній рівень експресії FolR1) і HT-29 (низький рівень експресії FolR1), індукований проміжними FolR1-зв'язувальними агентами (TCB 6E10, TCB 14B1 і TCB 9C7), TCB 16D5 і TCB 36F2, після інкубації протягом 24 год. (A-B) і 48 год. (Г-Е). Людські PBMC використовували як ефекторні клітини (E:T=10:1);

на фіг. 37A-E - дані про цитоліз Т-клітинами людських пухлинних клітин HeLa (високий рівень експресії FolR1), SKOV-3 (середній рівень експресії FolR1) і HT-29 (низький рівень експресії FolR1), індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю (TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5-G49S/K53A, TCB 16D5 W96Y, TCB 16D5 W96Y/D52E), TCB 16D5 і TCB 36F2 після інкубації протягом 24 год. (фіг. 38A-B) і 48 год. (фіг. 38Г-Е). Людські PBMC використовували як ефекторні клітини (E:T=10:1);

на фіг. 38A-F - дані про цитоліз Т-клітинами первинних людських клітин з ретинального пігментного епітелію й кортикального ниркового епітелію, індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю (TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5 W96Y/D52E), TCB 16D5, TCB 36F2 і FolR1-зв'язувальний агентом TCB 14B1 із проміжною афінністю, який оцінювали після інкубації впродовж 24 год. (фіг. 39A-B) і 48 год. (фіг. 39Г-Е) (E:T=10:1, людські PBMC використовували як ефекторні клітини). Клітини HT-29 (низький рівень експресії FolR1) включали як контрольну лінію клітин, а TCB DP47 служив як незв'язувальний контроль;

на фіг. 39A-Б – результати оцінки ФК при введенні однієї дози конструкцій FOLR1-TCB на самках мишей лінії NOG;

на фіг. 40A-Ж – результати оцінки ефективності in vivo конструкцій FOLR1-TCB (16D5, 16D5 G49S/S93A і 16D5 W96Y/D52E) після переносу людських PBMC у клітини мишей лінії NOG, що несуть HeLa;

на фіг. 41 – дані, що свідчать про те, що антитіло фарлетузимаб (темно-зелений колір, другий зверху) і Mov19 (сірий колір, зверху) мали здатність зв'язуватися з huFolR1, захопленим на 16D5, це демонструє, що зв'язувальні агенти серії 16D5 розпізнають епітоп, відмінний від епітопу, що розпізнається фарлетузимабом або Mov19.

Докладний опис винаходу

Визначення

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

У контексті даного опису поняття "антигензв'язувальна молекула" у найбільш широкому розумінні стосується молекули, яка специфічно зв'язується з антигенною детермінантою. Прикладами антигензв'язувальних молекул є імунoglobуліни і їх похідні, наприклад, фрагменти.

Поняття "біспецифічна" означає, що антигензв'язувальна молекула має здатність специфічно зв'язуватися принаймні із двома різними антигенними детермінантами. Як правило, біспецифічна антигензв'язувальна молекула містить принаймні два антигензв'язувальні сайти, кожний з яких є специфічним у відношенні різних антигенних детермінант. У деяких варіантах здійснення винаходу біспецифічна антигензв'язувальна молекула має здатність одночасно зв'язуватися із двома антигенними детермінантами, насамперед із двома антигенними детермінантами, експресованими на двох різних клітинах.

У контексті даного опису поняття "валентність" означає наявність певної кількості антигензв'язувальних сайтів в антигензв'язувальній молекулі. Да, поняття "одновалентне зв'язування з антигеном" означає наявність одного (і не більше одного) специфічного відносно антигену антигензв'язувального сайту в антигензв'язувальній молекулі.

Поняття "антигензв'язувальний сайт" стосується сайту, тобто одного або декількох амінокислотних залишків антигензв'язувальної молекули, які забезпечують взаємодію з антигеном. Наприклад, антигензв'язувальний сайт антитіла містить амінокислотні залишки з гіперваріабельних ділянок (ділянок, що визначають комплементарність) (CDR). Нативна молекула імунoglobуліну має, як правило, два антигензв'язувальні сайти, молекула Fab, як правило, має один антигензв'язувальний сайт.

У контексті даного опису поняття "антигензв'язувальний фрагмент" стосується поліпептидної молекули, яка специфічно зв'язується з антигенною детермінантою. В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент має здатність направляти субстанцію, до якої він приєднаний (наприклад, другий антигензв'язувальний фрагмент), до сайту-мішені, наприклад, до специфічного типу пухлинної клітини або строми пухлини, що несе антигенну детермінанту. В іншому варіанті здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент має здатність активувати передачу сигналів через його антиген-мішень, наприклад, антиген

комплексу Т-клітинного рецептора. Антигензв'язувальні фрагменти включають антитіла і їх фрагменти. Конкретні антигензв'язувальні фрагменти включають антигензв'язувальний домен антитіла, який містить варіабельну ділянку важкого ланцюга антитіла й варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла. У деяких варіантах здійснення винаходу антигензв'язувальні

5 фрагменти можуть включати константні ділянки антитіла, що додатково описане нижче й 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 із двох ізотипів: κ і λ .

У контексті даного опису поняття "антигенна детермінанта" є синонімом понять "антиген" і "епітоп" і стосується сайту (наприклад, ділянці, що складається із суміжних амінокислот, або конформаційної конфігурації, яка складається з різних ділянок несуміжних амінокислот) на поліпептидній макромолекулі, з якою зв'язується антигензв'язувальний фрагмент із утворенням комплексу антигензв'язувальний фрагмент-антиген. Придатні антигенні детермінанти можуть бути присутні, наприклад, на поверхні пухлинних клітин, на поверхні інфікованих вірусом клітин, на поверхні інших хворих клітин, на поверхні імунних клітин, клітин, що знаходяться у вільному стані в сироватці крові та/або в позаклітинному матриксі (ECM). У контексті даного опису білки, що стосуються антигенів, наприклад, FolR1 і CD3 , якщо не вказане інше, можуть представляти собою будь-які нативні форми білків з будь-якої застосовуваної як джерело хребетної тварини, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, люди) і гризуни (наприклад, миші й щурі). У конкретному варіанті здійснення винаходу антиген представляє собою людський білок. У контексті даного опису при посиланні на конкретний білок мається на увазі "повнорозмірний", непроцесований білок, а також будь-яка форма білка, отримана в результаті процесингу в клітині. Під поняття підпадають варіанти білка, що також зустрічаються в природних умовах, наприклад, сплайсингові варіанти або алельні варіанти. Прикладами людських білків, придатних як антигени, є (але не обмежуючись тільки ними): FolR1 (фолатний рецептор альфа (FRA); фолатзв'язувальний білок (FBP); людський FolR1 , UniProt № P15328; мишиний FolR1 , UniProt № P35846; FolR1 мавп циномолгус, UniProt № G7PR14) і CD3 , насамперед епсилон-субодиниця CD3 (див. UniProt № P07766 (версія 130), NCBI Refseq № NP_000724.1, SEQ ID NO: 150, людська послідовність; або UniProt № Q95LI5 (версія 49), NCBI GenBank, № BAB71849.1, послідовність мавп циномолгус [*Macaca fascicularis*]). Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, зв'язується з епітопом CD3 або антигеном клітини-мішені, який є консервативним для CD3 або антигена-мішені з різних видів. У деяких варіантах здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, зв'язується з CD3 і FolR1 , але не зв'язується з FolR2 (фолатний рецептор бета; FRB; людський FolR2 , UniProt № P14207) або FolR3 (фолатний рецептор гамма; людський FolR3 , UniProt № P41439).

Поняття "специфічно зв'язується" означає, що зв'язування є вибірковим відносно антигену і його можна відрізнити від небажаних або неспецифічних взаємодій. Здатність антигензв'язувального фрагмента зв'язуватися зі специфічною антигенною детермінантою можна визначати за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу (ELISA) або інших методик, відомих фахівцеві в даній галузі, наприклад, за допомогою методики на основі поверхневого плазмонного резонансу (здійснюючи аналіз за допомогою обладнання BIAcore) (Liljeblad і ін., Glyco J 17, 2000, стор. 323-329), і традиційних аналізів зв'язування (Heeley, Endocr Res 28, 2002, стор. 217-229). В одному з варіантів здійснення винаходу рівень зв'язування антигензв'язувального фрагмента з неспорідненим білком становить менше, ніж приблизно 10 % від рівня зв'язування антигензв'язувального фрагмента з антигеном, при вимірюванні, наприклад, за допомогою SPR. У деяких варіантах здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, який зв'язується з антигеном, або антигензв'язувальна молекула, що містить антигензв'язувальний фрагмент, характеризується величиною константи дисоціації (K_D), що становить $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{nM}$, $\leq 10 \text{nM}$, $\leq 1 \text{nM}$, $\leq 0,1 \text{nM}$, $\leq 0,01 \text{nM}$ або $\leq 0,001 \text{nM}$ (наприклад, 10^{-8}M або менш, наприклад, від 10^{-8}M до 10^{-13}M , наприклад, від 10^{-9}M до 10^{-13}M).

Поняття "афінність" стосується сумарної сили всіх нековалентних взаємодій між індивідуальним сайтом зв'язування молекули (наприклад, рецептора) і її партнера по зв'язуванню (наприклад, ліганду). Якщо не вказане інше, то в контексті даного опису поняття "афінність зв'язування" стосується властивості компонентів пари, що зв'язується (наприклад, антигензв'язувального фрагменту й антигену або рецептору й ліганду) афінності зв'язування, що відображає взаємодію за типом 1:1. Афінність молекули X до її партнера Y можна, як правило, характеризувати за допомогою константи дисоціації (K_D), яка представляє собою відношення констант швидкості реакції дисоціації й 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).

5 Поняття "знижене зв'язування (знижена здатність до зв'язування)", наприклад, знижена здатність до зв'язування з Fc-рецептором, стосується зниження афінності відносно відповідної взаємодії, виміряної, 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

10 зв'язування)" стосується підвищення афінності зв'язування відносно відповідної взаємодії. Поняття "Т-клітинна активація (активація Т-клітин)" у контексті даного опису стосується однієї або декількох клітинних відповідей Т-лімфоциту, зокрема, цитотоксичного Т-лімфоциту, вибраним з: проліферації, диференціювання, секреції цитокінів, вивільнення цитотоксичних ефektorних молекул, цитотоксичної активності й експресії маркерів активації. Біспецифічні

15 антигензв'язувальні 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" у контексті даного опису стосується антигенної детермінанти, яка присутня на поверхні клітини-мішені, наприклад, клітини в пухлині, такий як

20 ракова клітина або клітина строми пухлини. Зокрема, поняття "антиген клітини-мішені" стосується фолатного рецептора 1. У контексті даного опису поняття "перший" і "другий" відносно антигензв'язувальних фрагментів і т.д. застосовують із метою зручності розрізнення, коли присутній більше одного типу кожного із фрагментів. Застосування цих понять не має на увазі їх конкретний порядок або

25 орієнтацію в біспецифічній антигензв'язувальній молекулі, що активує Т-клітини, якщо спеціально не вказане інше. Поняття "молекула Fab" стосується білка, яка складається з VH і CH1-домену важкого ланцюга ("важкий ланцюг Fab") і VL і CL-домену легкого ланцюга ("легкий ланцюг Fab") імуноглобуліну.

30 У контексті даного опису поняття "молекули Fab, що мають ідентичні легкі ланцюги VLCL" стосується зв'язувальних агентів, які мають один й той же легкий ланцюг, але, проте мають різні специфічності, наприклад, можуть зв'язуватися з CD3 або FcR1. У деяких варіантах здійснення винаходу біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, містять принаймні дві молекули Fab, що мають ідентичні легкі ланцюги VLCL. Відповідні важкі ланцюги реконструюють і надають

35 здатність специфічно зв'язуватися з антигеном CD3 і антигеном клітини-мішені FcR1 відповідно, що активують Т-клітину. 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.

40 У контексті даного опису поняття "одноланцюгова" стосується молекули, що містить амінокислотні мономери, зв'язані лінійно за допомогою пептидних зв'язків. У деяких варіантах здійснення винаходу один з антигензв'язувальних фрагментів представляє собою одноланцюгову молекулу Fab, тобто молекулу Fab, у якій легкий ланцюг Fab і важкий ланцюг Fab з'єднані за допомогою пептидного лінкера з утворенням одного пептидного ланцюга. У

45 конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу С-кінець легкого ланцюга Fab з'єднаний з N-кінцем важкого ланцюга Fab в одноланцюговій молекулі Fab. Під кросовер-молекулою Fab (яку позначають також як "CrossFab") мається на увазі молекула Fab, у якій або варіабельні ділянки, або константні ділянки важкого й легкого ланцюга Fab виміняно один на одного, тобто кросовер-молекула Fab містить пептидний ланцюг, який

50 складається з варіабельної ділянки легкого ланцюга й константної ділянки важкого ланцюга, і пептидний ланцюг, який складається з варіабельної ділянки важкого ланцюга й константної ділянки легкого ланцюга. Для простоти розуміння, слід зазначити, що в кросовер-молекулі Fab, у якій обміняні варіабельні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab, пептидний ланцюг, що містить константну ділянку важкого ланцюга, позначають у контексті даного опису як

55 "важкий ланцюг" кросовер-молекули Fab. І, навпаки, у кросовер-молекулі Fab, у якій обміняні константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab, пептидний ланцюг, що містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, позначають у контексті даного опису як "важкий ланцюг" кросовер-молекули Fab. Антитіло, яке містить один або декілька CrossFab, позначають в даному описі як CrossMAт.

60 На відміну від цього, поняття "канонічна" молекула Fab позначає молекулу Fab у її форматі,

що зустрічається в природніх умовах, тобто що містить важкий ланцюг, який складається з варіабельної й константної ділянок важкого ланцюга (VH-CH1), і легкий ланцюг, який складається з варіабельної й константної ділянок легкого ланцюга (VL-CL).

Поняття "молекула імуноглобуліну" стосується білка, що має структуру антитіла, що зустрічається в природніх умовах. Наприклад, імуноглобуліни класу IgG представляють собою гетеротетрамерні глікопротеїни з молекулярною масою приблизно 150000 Да, що складаються із двох легких ланцюгів і двох важких ланцюгів, зв'язаних дисульфідними містками. У 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 розташовано три константні домени (CH1, CH2 і CH3), які називають також константною ділянкою важкого ланцюга. Аналогічно до цього, у напрямку від N-кінця до С-кінця кожний легкий ланцюг містить варіабельну ділянку (VL), яку називають також варіабельною легким доменом або варіабельним доменом легкого ланцюга, за яким розташований константний домен легкого ланцюга (CL), який називають також константною ділянкою легкого ланцюга. Важкий ланцюг імуноглобуліну може належати до одного з п'яти типів, позначених як α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG) або μ (IgM), деякі з яких додатково поділяють на підтипи, наприклад, γ_1 (IgG₁), γ_2 (IgG₂), γ_3 (IgG₃), γ_4 (IgG₄), α_1 (IgA₁) і α_2 (IgA₂). Легкий ланцюг імуноглобуліну може належати до одного із двох типів, позначених як капа (κ) і лямбда (λ), на основі амінокислотної послідовності її константного домену. Імуноглобулін, як правило, складається із двох молекул Fab і Fc-домену, які з'єднані через шарнірну ділянку імуноглобуліну.

У контексті даного опису поняття "антитіло" використовується в його найбільш широкому розумінні, і воно стосується різних структур антитіл, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) моноклональні антитіла, поліклональні антитіла й фрагменти антитіл, за умови, що вони мають необхідну антигензв'язувальну активність.

Поняття "фрагмент антитіла" стосується молекули, відмінної від інтактного антитіла, яка містить частину інтактного антитіла, що має здатність зв'язуватися 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, лінійні антитіла, одноланцюгові молекули антитіл (наприклад, scFv) і одnodоменні антитіла. Огляд деяких фрагментів антитіл див., наприклад, в Hudson і ін., Nat Med 9, 2003, стор. 129-134. Огляд scFv-фрагментів див., наприклад, в Plückthun в: The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, т. 113, під ред. Rosenberg і Moore, вид-во Springer-Verlag, New York, 1994, стор. 269-315; див. також WO 93/16185; і US №№ 5571894 і 5587458. Обговорення Fab- і F(ab')₂-фрагментів, що містять залишки епітопу, що зв'язується з рецептором порятунку, що й мають подовжений час напівжиття in vivo, див. в US № 5869046. Димерні антитіла (діабоді) представляють собою фрагменти антитіл із двома антигензв'язувальними сайтами, які можуть бути двовалентними або біспецифічними (див., наприклад, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson і ін., Nat Med 9, 2003, стор. 129-134; і Hollinger і ін., Proc Natl Acad Sci USA 90, 1993, стор. 6444-6448. Тримерні (триабоді) і тетрамерні (тетрабоді) антитіла описані також в Hudson і ін., Nat Med 9, 2003, стор. 129-134. Одnodоменні антитіла представляють собою фрагменти антитіл, що містять увесь варіабельний домен важкого ланцюга або його частину або весь варіабельний домен легкого ланцюга антитіла або його частину. У деяких варіантах здійснення винаходу одnodоменне антитіло представляє собою людське одnodоменне антитіло (фірма Domantis, Inc., Валтам, шт. Масачусетс; 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 вказано в даному описі.

Поняття "антигензв'язувальний домен" стосується частини антитіла, яка містить ділянку, що специфічно зв'язується і що комплементарною до частини антигену або повного антигену. Антигензв'язувальний домен може представляти собою, наприклад, один або декілька варіабельних доменів антитіла (які називають також варіабельними ділянками антитіла). Переважно антигензв'язувальний домен містить варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL) антитіла й варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH) антитіла.

Поняття "варіабельна ділянка" або "варіабельний домен" стосується домену важкого або легкого ланцюга антитіла, який бере участь у зв'язуванні антитіла з антигеном. Варіабельні домени важкого ланцюга й 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 і ін., Kubu 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 антигену.

Поняття "гіперваріабельна ділянка" або "HVR" у контексті даного опису стосується кожної з ділянок варіабельного домену антитіла, послідовності яких є гіперваріабельними, та/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 та/або з "ділянок, що визначають комплементарність" (CDR), останні відрізняються найбільш вираженою варіабельністю послідовності та/або беруть участь у розпізнаванні антигенів. За винятком CDR1 в VH, CDR, як правило, містять амінокислотні залишки з гіперваріабельних петель. Гіперваріабельні ділянки (HVR) часто позначають як "ділянки, які визначають комплементарність" (CDR), і ці поняття в контексті даного опису використовують взаємозамінно, і вони стосуються ділянок варіабельної ділянки, які утворюють антигензв'язувальні ділянки. Ця конкретна ділянка описана в Kabat і ін., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 1983 і в Chothia і ін., J. Mol. Biol. 196, 1987, стор. 901-917, причому ці визначення стосуються амінокислотних залишків, що перекриваються, або піднаборів амінокислотних залишків при їх порівнянні один з одним. Однак у 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 із процитованих вище посилань, представлені в порівнянні нижче в таблиці 1. Точні номери залишків, які утворюють конкретний CDR, повинні варіюватися залежно від послідовності й розміру CDR. Фахівці в даній галузі на основі даних про амінокислотну послідовність варіабельної ділянки антитіла легко можуть визначати, які залишки входять у конкретний CDR.

Таблиця 1

Визначення CDR¹

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

¹ Нумерація всіх вхідних в CDR залишків у таблиці А дана відповідно до номенклатури, запропонованої Кеботом зі співавторами (див. нижче).

² Позначення "AbM" із прописною буквою "b", використане в таблиці А, стосується CDR, як вони визначені програмою для моделювання антитіл "AbM" компанії Oxford Molecular Group.

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

Нумерація поліпептидних послідовностей в "Переліку послідовностей" не представляє собою нумерацію відповідно до системи Кебота. Однак у компетенції звичайного фахівця в даній галузі є перетворення нумерації послідовностей в "Переліку послідовностей" у нумерацію за Кеботом.

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

Поняття "клас" антитіла або імуноглобуліну стосується типу константного домену або константної ділянки, що 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,

IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ і IgA₂. Константні домени важких ланцюгів, що відповідають різним класам імуноглобулінів, позначають як α, δ, ε, γ і μ відповідно.

У контексті даного опису поняття "Fc-домен" або "Fc-ділянка" стосується C-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, який містить принаймні частину константної ділянки. Поняття стосується нативної послідовності Fc-ділянок і варіантів Fc-ділянок. Хоча пограничні послідовності Fc-ділянки у важкому ланцюзі IgG можуть злегка варіюватися, як правило, Fc-ділянка важкого ланцюга людського IgG розташована від Cys226 або від Pro230 до карбоксильного кінця важкого ланцюга. Однак C-кінцевий лізин (Lys447) Fc-ділянки може або бути присутній, або відсутній. Якщо спеціально не вказане інше, то нумерація амінокислотних залишків в Fc-ділянці або константній ділянці відповідає системі Eu-нумерації, яку називають також Eu-індексом, описаної в Kabat і 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 стосується одного із двох поліпептидів, що утворюють димерний Fc-домен, тобто поліпептиду, який містить C-кінцеві константні ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, що мають здатність до стабільної самоасоціації. Наприклад, субодиниця Fc-домену IgG містить константний домен CH2 IgG і CH3 IgG.

"Модифікація, що підсилює асоціацію першої й другої субодиниці Fc-домену" представляє 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. У контексті даного опису модифікація, що підсилює асоціацію, включає, насамперед, різні модифікації, здійснювані з кожною із двох субодиниць Fc-домену, призначених для асоціації (наприклад, першої й другої субодиниці Fc-домену), при цьому, модифікації доповнюють одна одну таким чином, щоб підсилювати асоціацію двох субодиниць Fc-домену. Наприклад, модифікація, що підсилює асоціацію, може змінювати структуру або заряд однієї або обох субодиниць Fc-домену таким чином, щоб поліпшувати їх асоціацію стерично або електростатично відповідно. Да, (гетеро)димеризація має місце між поліпептидом, який містить першу субодиницю Fc-домену, і поліпептидом, який містить другу субодиницю Fc-домену, які можуть бути неідентичними, оскільки додаткові компоненти, злиті з кожною із субодиниць (наприклад, антигензв'язувальні фрагменти), не є однаковими. У деяких варіантах здійснення винаходу модифікація, що підсилює асоціацію, представляє собою амінокислотну мутацію в Fc-домени, зокрема, амінокислотну заміну. У конкретному варіанті здійснення винаходу модифікація, що підсилює асоціацію, представляє собою індивідуальну амінокислотну мутацію, зокрема, амінокислотну заміну, у кожній із двох субодиниць Fc-домену.

Поняття "ефекторні функції", використовуване в даному описі, стосується видів біологічної активності, властивих Fc-ділянки антитіла, які змінюються залежно від ізотипу антитіла. Прикладами ефекторних функцій антитіла є: здатність зв'язуватися з C1q і комплементзалежна цитотоксичність (CDC), здатність зв'язуватися з Fc-рецептором, антитіло-зумовлена клітиннозалежна цитотоксичність (ADCC), антитіло-зумовлений клітиннозалежний фагоцитоз (ADCP), секреція цитокінів, опосередковане імунним комплексом поглинання антигену антигенпрезентуючими клітинами, знижуюча регуляція рецепторів клітинної поверхні (наприклад, B-клітинного рецептора); і активація B-клітин.

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

У контексті даного опису мається на увазі, що поняття "амінокислотна мутація" стосується амінокислотних замін, делецій, інсерцій і модифікацій. Можна застосовувати будь-яку комбінацію заміни, делеції, інсерції й модифікації для створення кінцевої конструкції за умови, що кінцева конструкція має необхідні характеристики, наприклад, знижену здатність зв'язуватися з Fc-рецептором або підвищену асоціацію з іншим пептидом. Амінокислотна послідовність із делеціями й інсерціями включає аміно- та/або карбоксикінцеві делеції й 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 та/або хімічні властивості. Амінокислотні заміни включають заміну на амінокислоти, що не зустрічаються в природніх умовах, або на похідні двадцяти стандартних амінокислот, що зустрічаються в природніх умовах (наприклад, на 4-гідроксипролін, 3-метилгістидин, орнітин,

гомосерин, 5-гідроксилізін). Амінокислотні мутації можна створювати за допомогою генетичних або хімічних методів, добре відомих у даній галузі. Генетичні методи можуть включати сайтнаправлений мутагенез, ПЛР, синтез генів і т.п. Мається на увазі, що можна застосовувати також методи зміни бокової групи амінокислоти, відмінні від методів генетичної інженерії, такі як

5 хімічна модифікація. Для позначення однієї й тієї ж амінокислотної мутації можна використовувати різні позначення. Наприклад, заміну проліну в положенні 329 Fc-домену на гліцин можна позначати як 329G, G329, G₃₂₉, P329G або Pro329Gly.

У контексті даного опису поняття "поліпептид" стосується молекули, яка складається з мономерів (амінокислот), лінійно зв'язаних амідними зв'язками (які позначають також як

10 пептидні зв'язки). Поняття "поліпептид" стосується будь-якого ланцюга, що складається із двох або більшої кількості амінокислот, і не мається на увазі, що продукт має конкретну довжину. Так, пептиди, дипептиди, трипептиди, олігопептиди, "білок", "амінокислотний ланцюг" або будь-яке інше прийняте поняття, що стосується ланцюга, що складається із двох або більшої кількості амінокислот, усі підпадають під визначення "поліпептид", і поняття "поліпептид" можна

15 застосовувати замість або взаємозамінно з будь-яким із вказаних понять. Мається на увазі також, що поняття "поліпептид" стосується продуктів, які несуть пост-експресійні модифікації поліпептиду, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) глікозилювання, ацетилювання, фосфорилювання, амидування, дериватизацію з використанням відомих захисних/блокувальних груп, протеолітичне розщеплення або модифікацію за допомогою амінокислот, що не

20 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 транскрибувати зі створеної нуклеотидної послідовності. Його можна створювати будь-яким шляхом, включаючи хімічний синтез. Поліпептид, запропонований у винаході, може складатися приблизно з 3 або більше, 5 або більше, 10 або

25 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 тривимірну структуру, хоча вони необов'язково повинні мати вказану структуру. Поліпептиди з визначеною тривимірною структурою позначають як поліпептиди, що мають укладку, а поліпептиди, які не мають визначеної тривимірної структури, але які можуть

30 легше адаптуватися до великої кількості різних конформацій, позначають як поліпептиди, що не мають укладки.

Під "виділеним" поліпептидом або його варіантом, або похідним мають на увазі поліпептид, який не знаходиться в його природньому оточенні. При цьому не потрібно наявності якого-небудь конкретного рівня очищення. Наприклад, виділений поліпептид можна видаляти з його

35 нативного або природнього оточення. Отримані шляхом рекомбінації поліпептиди й білки, експресовані в клітинах-хазяїнах, розглядаються як виділені для цілей даного винаходу, якщо вони представляють собою нативні або рекомбінантні поліпептиди, які відділені, фракціоновані або частково або повністю очищені за допомогою будь-якого прийнятного методу.

"Відсоток (%) ідентичності амінокислотної послідовності" відносно поліпептидної референс-послідовності визначають як відсоток амінокислотних залишків у послідовності-кандидаті, які ідентичні до амінокислотних залишків у поліпептидній референс-послідовності, після вирівнювання послідовностей і інтродукції при необхідності проломів для досягнення максимального відсотка ідентичності послідовностей, і при цьому які-небудь консервативні заміни не враховуються при оцінці ідентичності послідовностей. Порівняльний аналіз для

40 визначення відсотка ідентичності амінокислотних послідовностей можна здійснювати різними шляхами, які знаходяться у компетенції фахівця в даній галузі, наприклад, з використанням легко доступних комп'ютерних програм, таких як програма BLAST, BLAST-2, ALIGN або Megalign (DNASTAR). Фахівці в даній галузі можуть визначати відповідні параметри для вирівнювання послідовностей, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального

45 вирівнювання по всій довжині порівнюваних послідовностей. Однак для цілей даного винаходу величину % ідентичності амінокислотних послідовностей одержують із 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

50 Office, Washington D.C., 20559, де він зареєстрований під реєстраційним номером U.S. Copyright Registration, № TXU510087. Програма ALIGN-2 представляє собою загально 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. У програмі ALIGN-2 усі параметри для

55 порівняння послідовностей є заданими й не повинні змінюватися. У ситуаціях, коли ALIGN-2

60

застосовують для порівняння амінокислотних послідовностей, % ідентичності амінокислотних послідовностей даної амінокислотної послідовності А відносно або в порівнянні з даною амінокислотною послідовністю Б (яку іншими словами можна позначати як дана амінокислотна послідовність А, яка має або відрізняється певним % ідентичності амінокислотної послідовності відносно або в порівнянні з даною амінокислотною послідовністю Б), розраховують у такий спосіб:

$$100 \times \text{частка } X/Y,$$

де Х позначає кількість амінокислотних залишків, оцінених програмою порівняльного аналізу послідовностей ALIGN-2 як ідентичні збіги при порівняльному аналізі послідовностей А і Б за допомогою вказаної програми, і де Y позначає загальну кількість амінокислотних залишків у Б. Повинно бути очевидно, що, коли довжина амінокислотної послідовності А не дорівнює довжині амінокислотної послідовності Б, то % ідентичності амінокислотної послідовності А відносно амінокислотної послідовності Б не повинен дорівнювати % ідентичності амінокислотної послідовності Б відносно амінокислотної послідовності А. Якщо спеціально не вказане інше, то в контексті даного опису всі величини % ідентичності амінокислотних послідовностей одержують згідно із процедурою, описаною в останньому з попередніх параграфів, за допомогою комп'ютерної програми ALIGN-2.

Поняття "полінуклеотид" стосується виділеної молекули нуклеїнової кислоти або конструкції, наприклад, матричної РНК (мРНК), РНК вірусного походження або плазмідної ДНК (пднк). Полінуклеотид може містити звичайну фосфодієфірний зв'язок або нетрадиційний зв'язок (наприклад, амідний зв'язок, таку, яка присутня у пептидних нуклеїнових кислотах (ПНК)). Поняття "молекула нуклеїнової кислоти" стосується будь-якого одного або декількох сегментів нуклеїнової кислоти, наприклад, фрагментів ДНК або РНК, присутніх у полінуклеотиді.

Під "виділеною" молекулою нуклеїнової кислоти або полінуклеотидом мається на увазі молекула нуклеїнової кислоти, тобто ДНК або РНК, яка відділена від її нативного оточення. Наприклад, рекомбінантний полінуклеотид, який кодує поліпептид, що входить до складу вектора, 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 у розчині. Виділений полінуклеотид включає молекулу полінуклеотиду, що входить у клітини, які в нормі містять молекулу полінуклеотиду, але молекула полінуклеотиду присутня поза хромосомою або має локалізацію в хромосомі, відмінну від її локалізації в хромосомі в природних умовах. Виділені молекули РНК включають отримані 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, отримані за допомогою синтезу. Крім того, полінуклеотид або нуклеїнова кислота може представляти собою або може включати регуляторний елемент, такий як промотор, сайт зв'язування рибосом або термінатор транскрипції.

Під нуклеїновою кислотою або полінуклеотидом, що має/що мають нуклеотидну послідовність, яка, наприклад, на 95 % "ідентична" до нуклеотидної референс-послідовності, запропонованої в даному винаході, мається на увазі, що нуклеотидна послідовність полінуклеотиду ідентична до 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 % до нуклеотидної референс-послідовності, аж до 5 % нуклеотидів у референс-послідовності можна вилучати шляхом делеції або замінити на інший нуклеотид, або аж до 5 % нуклеотидів від загальної кількості нуклеотидів у 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, і їх вбудовують або індивідуально між залишками в референс-послідовності, або їх вбудовують у референс-послідовність у вигляді однієї або декількох суміжних груп. На практиці розв'язок питання про те, чи ідентична конкретна полінуклеотидна послідовність принаймні на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % до нуклеотидної послідовності, запропонованої в даному винаході, можна вирішувати, як правило, з використанням відомих комп'ютерних програм, наприклад, вказаних вище для поліпептидів (наприклад, ALIGN-2).

Поняття "касета експресії" стосується полінуклеотиду, отриманому за допомогою рекомбінації або синтезу, який містить серії специфічних нуклеотидних елементів, які забезпечують транскрипцію конкретної нуклеїнової кислоти в клітині-мішені. Рекомбінантну касету експресії можна вбудовувати в плазмиду, хромосому, мітохондріальну ДНК, плазмидну

ДНК, вірус або фрагмент нуклеїнової кислоти. Як правило, рекомбінантна касета експресії, що представляє собою частину експресійного вектора, включає серед інших послідовностей нуклеотидну послідовність, що підлягає транскрипції, і промотор. У деяких варіантах здійснення винаходу касета експресії, запропонована у винаході, містить полінуклеотидні послідовності, які кодують біспецифічні антигензв'язувальні молекули, запропоновані у винаході, або їх фрагменти.

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

У контексті даного опису поняття "клітина-хазяїн", "лінія клітин-хазяїнів" і "культура клітин-хазяїнів" використовуються взаємозамінно, і вони стосуються клітин, у які інтродукована екзогенна нуклеїнова кислота, включаючи потомство вказаних клітин. До клітин-хазяїнів належить "трансформанти" і "трансформовані клітини", які включають первинні трансформовані клітини, а також потомство, виведене з них, незалежно від кількості пересівань. Потомство може не бути строго ідентичним до батьківській клітині за складом нуклеїнових кислот, а може нести мутації. Під дане поняття підпадає мутантне потомство, яке має такою ж функцію або біологічну активність, що й відібрана шляхом скринінгу або селекції вихідна трансформована клітина. Клітина-хазяїн представляє собою будь-який тип клітинної системи, яку можна застосовувати для створення біспецифічних антигензв'язувальних молекул, запропонованих у даному винаході. Клітини-хазяїна 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 мишиної мієломи лінії P3 × 63, Per-клітини, PER.C6-клітини або клітини гібридоми, клітини дріжджів, клітини комах і клітини рослин, але також клітини, що знаходяться у трансгенній тварині, трансгенній рослині або в культивованій рослинній або тваринній тканині.

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

Антитіло-зумовлена клітиннозалежна цитотоксичність (ADCC) представляє собою імунний механізм, що приводить до лізису сенситивізованих антитілом клітин-мішеней імунними ефекторними клітинами. Клітини-мішені представляють собою клітини, з якими антитіла або їх похідні, що містять Fc-ділянку, специфічно зв'язуються, як правило, через ділянку білка, яка є N-кінцевою відносно Fc-ділянки. У контексті даного опису поняття "знижена ADCC" стосується або зниження кількості лізованих у цей момент часу клітин-мішеней при даній концентрації антитіла в середовищі, що оточує клітини-мішені, шляхом вказаного вище механізму ADCC, та/або підвищення концентрації антитіла в середовищі, що оточує клітини-мішені, необхідної для досягнення лізису даного кількості клітин-мішеней тепер за допомогою механізму ADCC. Зниження ADCC-активності визначають відносно ADCC, опосередковуваної таким же антитілом, яке отримано за допомогою такого ж типу клітин-хазяїн з використанням однакових стандартних методів одержання, очищення, приготування композицій і зберігання (які відомі фахівцям у даній галузі), але яке не піддавали інженерії. Наприклад, зниження ADCC, опосередковуваної антитілом, яке містить у його Fc-домені амінокислотну заміну, яка знижує ADCC, визначають відносно ADCC, опосередковуваної 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 стосується кількості, необхідної для забезпечення фізіологічної зміни в клітині або тканині, у яку його вводять.

Поняття "терапевтично ефективна кількість" агента, наприклад, фармацевтичної композиції, стосується кількості, ефективною при застосуванні в дозах і протягом періодів часу, необхідних для досягнення необхідного терапевтичного або профілактичного результату. Терапевтично

ефективна кількість агента, наприклад, елімінує, знижує, сповільнює, мінімізує або попереджає небажані явища захворювання.

"Індивідуум" або "суб'єкт" представляє собою ссавця. Ссавці представляють собою (але не обмежуючись тільки ними) одомашнених тварин (наприклад, корови, вівці, кішки, собаки й коня), приматів (наприклад, люди й примати, крім людини, такі як мавпи), кроликів і гризунів (наприклад, миші й щурі). Переважно індивідуум або суб'єкт представляє собою людину.

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

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

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

Поняття "антагоніст" застосовують у його найбільш широкому розумінні, і воно включає будь-яку молекулу, яка частково або повністю блокує, інгібує або нейтралізує біологічну активність нативного поліпептиду, вказаного в даному описі. Аналогічно до цього, поняття "агоніст" застосовують у його найбільш широкому розумінні, і воно включає будь-яку молекулу, яка індукує біологічну активність нативного поліпептиду, вказаного в даному описі. Придатні агоністичні або антагоністичні молекули включають конкретно агоністичні або антагоністичні антитіла або фрагменти антитіл, включаючи сконструйовані фрагменти антитіл, фрагменти або варіанти амінокислотної послідовності нативних поліпептидів, пептидів, антисмислові олігонуклеотиди, малі органічні молекули і т.д. Методи ідентифікації агоністів або антагоністів поліпептиду можуть включати приведення поліпептиду в контакт із агоністичною або антагоністичною молекулою-кандидатом і вимірювання зміни, що виявляється, одного або декількох видів біологічної активності, у нормі асоційованої з поліпептидом.

Поняття "листівка-вкладиш в упаковку" у контексті даного опису стосується інструкцій, які звичайно поміщають у упаковку терапевтичних продуктів, що надходять у продаж, які містять інформацію про показання, застосування, дозу, шляхи введення, комбіновані терапії, протипокази та/або запобіжні заходи при застосуванні вказаних терапевтичних продуктів.

Усі посилання, публікації, патенти й заявки на патент, вказані в даному описі, повністю включені в даний опис як посилання.

Докладний опис варіантів здійснення винаходу

Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, є біспецифічною, тобто вона містить принаймні два антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися із двома різними антигенними детермінантами, а саме, з CD3 і з FcγR1. Згідно з винаходом антигензв'язувальні фрагменти представляють собою молекули Fab (тобто антигензв'язувальні домени, що складаються із важкого й легкого ланцюга, кожна з яких містить варіабельну й 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 й легкого ланцюга.

Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, має здатність одночасно зв'язуватися з антигеном клітини-мішені FcγR1 і CD3. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, має здатність до перехресного зв'язування з Т-клітиною і експресуючою FcγR1 клітиною-мішенню за допомогою одночасного зв'язування з антигеном клітини-мішені FcγR1 і CD3. У ще більш конкретному варіанті здійснення винаходу таке одночасне зв'язування приводить до лізису експресуючою FcγR1 клітиною-мішені, насамперед експресуючою FcγR1

пухлинної клітини. В одному з варіантів здійснення винаходу таке одночасне зв'язування приводить до активації Т-клітини. В інших варіантах здійснення винаходу таке одночасне зв'язування приводить до клітинної відповіді Т-лімфоциту, насамперед цитотоксичного Т-лімфоциту, вибраному з наступної групи: проліферація, диференціювання, секреція цитокінів, вивільнення цитотоксичної ефекторної молекули, цитотоксична активність і експресія маркерів активації. В одному з варіантів здійснення винаходу зв'язування біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, з CD3 без одночасного зв'язування з антигеном клітини-мішені FolR1 не приводить до активації Т-клітини.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, має здатність перенаправляти цитотоксичну активність Т-клітини на експресуючу FolR1 клітину-мішень. У конкретному варіанті здійснення винаходу вказаний перенапрямок не залежить від опосередковуваної ГКГС презентації пептидного антигену клітиною-мішенню та/або від специфічності Т-клітини.

Зокрема, згідно з деякими варіантами здійснення винаходу Т-клітина представляє собою цитотоксичну Т-клітину. У деяких варіантах здійснення винаходу Т-клітина представляє собою CD4⁺- або CD8⁺-Т-клітину, насамперед CD8⁺-Т-клітину.

Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, містить принаймні один антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з CD3 (у даному описі його позначають також як "зв'язувальний антиген CD3 фрагмент" або "перший антигензв'язувальний фрагмент"). У конкретному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить не більше одного антигензв'язувального фрагмента, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, характеризується одновалентним зв'язуванням з CD3. У конкретному варіанті здійснення винаходу CD3 представляє собою CD3 людини або CD3 мавп циномогус, більш конкретно, людський CD3. У конкретному варіанті здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент має перехресну реактивність із (тобто специфічно зв'язується з) людським CD3 і CD3 мавпи циномогус. У деяких варіантах здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент має здатність специфічно зв'язуватися з епсилон-субодиницю CD3 (див. UniProt № P07766 (версія 130), NCBI Refseq № NP_000724.1, SEQ ID NO: 150, людська послідовність; UniProt № Q95LI5 (версія 49), NCBI GenBank № BAB71849.1, послідовність мавп циномогус [Macaca fascicularis]).

У деяких варіантах здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34.

В одному з варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34.

В одному з варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка принаймні приблизно 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 36, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка принаймні приблизно 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 31.

Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, містить принаймні один антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з антигеном клітини-мішені FolR1 (у даному описі його позначають також як "зв'язувальний FolR1 фрагмент" або "другий" або "третій" антигензв'язувальний фрагмент). В одному з варіантів здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з антигеном клітини-мішені FolR1, не зв'язується з FolR2 або FolR3. У конкретному варіанті здійснення винаходу зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент мати перехресну реактивність із (тобто специфічно зв'язується з) FolR1 людини й FolR1 мавп циномогус. У конкретних варіантах здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить два антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність зв'язуватися з антигеном клітини-мішені FolR1. В одному з таких конкретних варіантів здійснення винаходу кожний із вказаних антигензв'язувальних фрагментів специфічно зв'язується з однією й тією ж

антигенною детермінантою. У ще більш конкретному варіанті здійснення винаходу всі вказані антигензв'язувальні фрагменти є ідентичними. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить не більше двох антигензв'язувальних фрагментів, що мають здатність зв'язуватися з FolR1.

5 FolR1-зв'язувальний фрагмент, як правило, представляє собою молекулу Fab, яка специфічно зв'язується з FolR1 і має здатність направляти біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, з якої вона з'єднана, до сайту-мішені, наприклад, до специфічного типу пухлинної клітини, яка експресує FolR1.

10 Одним з об'єктів даного винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34; і

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1).

20 В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить

25 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять ідентичні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга й CDR легкого ланцюга. В одному з таких варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент ідентичний до другого антигензв'язувального фрагменту.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, додатково містить Fc-домен, що складається з першої й другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації.

35 В одному з варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент і другий антигензв'язувальний фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену.

В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента, необов'язково через пептидний лінкер.

40 У наступному конкретному варіанті здійснення винаходу в біспецифічній антигензв'язувальній молекулі, що активує Т-клітину, присутньо не більше одного антигензв'язувального фрагмента, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, (тобто, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, характеризується

45 одновалентним зв'язуванням з CD3). Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, із загальним легким ланцюгом

При створенні даного винаходу було створено біспецифічне антитіло, у якому зв'язувальні фрагменти мають загальний легкий ланцюг, який зберігає специфічність і ефективність батьківського моноспецифічного антитіла до CD3 і може зв'язуватися із другим антигеном (наприклад, FolR1) за допомогою того ж самого легкого ланцюга. Створення біспецифічної молекули із загальним легким ланцюгом, який зберігає характеристики зв'язування, властиві батьківському антитілу, не є очевидним, оскільки загальні CDR гібридного легкого ланцюга повинні забезпечувати специфічність зв'язування з обома мішенями. Одним з об'єктів даного винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить перший і другий антигензв'язувальні фрагменти, один з яких представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, а інший з яких представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, у якій перша й друга молекули Fab мають ідентичні легкі ланцюги VLCL. В одному з варіантів здійснення винаходу вказаний ідентичний легкий ланцюг (VLCL) містить CDR легкого ланцюга, що мають SEQ ID NO: 32, SEQ

ID NO: 33 і SEQ ID NO: 34. В одному з варіантів здійснення винаходу вказаний ідентичний легкий ланцюг (VLCL) містить SEQ ID NO: 35.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

5 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

10 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 18, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34.

15 В одному з таких варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 антиген й фрагмент, що зв'язує FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 16, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 18, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

25 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

30 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить варіабельний важкий ланцюг утримуючу амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

35 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

40 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 275 і SEQ ID NO: 315, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34.

45 В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить амінокислотні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і амінокислотні послідовності CDR легкого ланцюга SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

50 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить амінокислотні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 275 і SEQ ID NO: 315, і амінокислотні послідовності CDR легкого ланцюга SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

60 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить варіабельний важкий ланцюг, що

містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 274, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

У наступному варіанті здійснення винаходу, антигензв'язувальний фрагмент, який має специфічність у відношенні FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 15, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 31, або їх варіанти, які зберігають функціональність.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 36, поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 15, і поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 31.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить

(III) третій антигензв'язувальний фрагмент (який представляє собою молекулу Fab), що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять ідентичні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга й CDR легкого ланцюга. В одному з таких варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент ідентичний до другого антигензв'язувального фрагменту.

Таким чином, в одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 18, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34.

(III) третій антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 18, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 фрагмент, що зв'язує антиген FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 16, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 17, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO:

18, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить

5 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

10 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

15 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), і який містить варіабельну важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

20 Так, один з варіантів здійснення винаходу стосується біспецифічних молекул, у яких принаймні два зв'язувальні фрагменти мають ідентичні легкі ланцюги й відповідні реконструйовані важкі ланцюги, які забезпечують специфічне зв'язування з антигеном CD3, що активує Т-клітину, і антигеном клітини-мішені FolR1 відповідно. Застосування так званого принципу "загального легкого ланцюга", тобто об'єднання двох зв'язувальних агентів, які мають одини (і той же!!!) легкий ланцюг, але мають різні специфічності, запобігає помилковому спарюванню легких ланцюгів. Таким чином, у процесі виробництва утворюється менша кількість побічних продуктів, що полегшує одержання гомогенних біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітину.

Компоненти біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, можна зливати один з одним у різних конфігураціях. Приклади конфігурацій представлені на фіг. 1А-І й більш докладно описані нижче.

30 У деяких варіантах здійснення винаходу вказана біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить Fc-домен, що складається з першої й другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації. У представлені нижче як приклад варіантах здійснення винаходу описана біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить Fc-домен.

35 Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить кросовер-Fab-фрагмент

40 При створенні даного винаходу був створений другий формат біспецифічного антитіла, у якому один з зв'язувальних фрагментів представляє собою кросовер-Fab-фрагмент. Одним з об'єктів винаходу є одновалентне біспецифічне антитіло, у якому один з Fab-фрагментів молекули IgG замінений на кросовер-Fab-фрагмент. Кросовер-Fab-фрагменти представляють собою Fab-фрагменти, у яких обміняні або варіабельні ділянки, або константні ділянки важкого й легкого ланцюга. Формати біспецифічного антитіла, що містить кросовер-Fab-фрагменти, описані, наприклад, в WO 2009/080252, WO 2009/080253, WO 2009/080251, WO 2009/080254, WO 2010/136172, WO 2010/145792 і WO 2013/026831. У конкретному варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент представляє собою кросовер-молекулу Fab, у якій обміняні або варіабельні ділянки, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab. Така модифікація попереджає помилкове спарювання важких і легких ланцюгів з різних молекул Fab, що підвищує вихід і чистоту антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході, при її одержанні методами рекомбінації. У конкретній кросовер-молекулі Fab, яку можна використовувати в біспецифічній антигензв'язувальній молекулі, що активує Т-клітину, запропонованій у винаході, обміняні варіабельні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab. В іншій кросовер-молекулі Fab, яку можна використовувати в біспецифічній антигензв'язувальній молекулі, що активує Т-клітину, запропонованій у винаході, обміняні константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab.

55 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

60 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 56 і SEQ ID NO: 57, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 65.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 антиген й фрагмент, що зв'язує FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 56, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 57, 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: 65.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою канонічну молекулу Fab.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою канонічну молекулу Fab.

У наступному варіанті здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має специфічність у відношенні FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 55, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 64, або їх варіанти, які зберігають функціональність.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 36, поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 31, поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 55, і поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 64.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить

(III) третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1.

В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент представляє собою канонічну молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу, третій антигензв'язувальний фрагмент представляє собою кросовер-молекулу Fab.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять ідентичні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга й CDR легкого ланцюга. В одному з таких варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент ідентичний до другого антигензв'язувального фрагменту.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з

фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 56 і SEQ ID NO: 57, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 65;

5 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 56 і SEQ ID NO: 57, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 65.

10 В одному з таких варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 антиген й фрагмент, що зв'язує FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 56, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 57, 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: 65.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент і третій антигензв'язувальні фрагменти обидва представляють собою канонічну молекулу Fab.

20 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.

30 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент і третій антигензв'язувальний фрагмент обидва представляють собою канонічну молекулу Fab.

35 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 і SEQ ID NO: 50, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 антиген й фрагмент, що зв'язує FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою канонічну молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою кросовер-молекулу Fab.

60 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

5 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51.

10 В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою канонічну молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою кросовер-молекулу Fab.

У наступному варіанті здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, який має специфічність у відношенні FolR1, містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 49, і послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 51 або її варіанти, які зберігають функціональність.

20 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 36, поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 31, поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 49, поліпептидну послідовність, яка принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична до SEQ ID NO: 51.

25 В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить

(III) третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1.

30 В одному з варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент представляє собою канонічну молекулу Fab. В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент представляє собою кросовер-молекулу Fab.

В одному з таких варіантів здійснення винаходу другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять ідентичні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга й CDR легкого ланцюга. В одному з таких варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент ідентичний другому антигензв'язувальний фрагмент.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

40 (I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;

45 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 і SEQ ID NO: 49, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54;

50 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 і SEQ ID NO: 50, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54.

55 В одному з таких варіантів здійснення винаходу зв'язувальний антиген CD3 фрагмент містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 антиген й фрагмент, що зв'язує FolR1, містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID

NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент і третій антигензв'язувальний фрагмент обидва представляють собою канонічну молекулу Fab.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою кросовер-молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.

(II) другий антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49 і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51.

(III) третій антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1), який містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент і третій антигензв'язувальний фрагмент обидва представляють собою канонічну молекулу Fab.

Так, один з варіантів здійснення винаходу стосується біспецифічних молекул, у яких два зв'язувальні фрагменти забезпечують специфічне зв'язуванням з FolR1 і один зв'язувальний фрагмент забезпечує специфічність у відношенні антигену CD3, що активує Т-клітину. Один з важких ланцюгів модифікують для забезпечення правильного спарювання важкого й легкого ланцюгів, виключаючи тим самим необхідність застосування підходу, заснованого на використанні загального легкого ланцюга. Наявність двох сайтів зв'язування FolR1 дозволяє здійснювати необхідну взаємодію з антигеном-мішенню FolR1 і активацію Т-клітин.

Компоненти біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, можна зливати один з одним у різних конфігураціях. Приклади конфігурацій представлені на фіг. 1A-I й більш докладно описані нижче.

У деяких варіантах здійснення винаходу вказана біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, додатково містить Fc-домен, який складається з першої й другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації. Нижче описані приклади варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить Fc-домен.

Формати біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину

Як вказано вище й проілюстроване на фіг. 1A-I, в одному з варіантів здійснення винаходу біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітину, містять принаймні два Fab-фрагмента, що мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL) і різні важкі ланцюги (VHCL), які забезпечують специфічності у відношенні двох різних антигенів, а саме, один Fab-фрагмент має здатність специфічно зв'язуватися з антигеном CD3, що активує Т-клітину, а інший Fab-фрагмент має здатність специфічно зв'язуватися з антигеном клітини-мішені FolR1.

В іншому варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить принаймні два антигензв'язувальні фрагменти (молекул Fab), один з яких представляє собою кросовер-молекулу Fab, а інший представляє собою канонічну молекулу Fab. В одному з таких варіантів здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, а другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR, представляє собою канонічну молекулу Fab.

Вказані компоненти біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, можна зливати один з одним у різних конфігураціях. Приклади конфігурацій представлені на фіг. 1A-I.

У деяких варіантах здійснення винаходу перший і другий антигензв'язувальні фрагменти кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. В одному конкретному такому варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, практично складається з першого й другого антигензв'язувальних фрагментів, Fc-домену, що складається з першої й другої субодиниці, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, де перший і другий антигензв'язувальний фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. В одному з таких варіантів здійснення винаходу перший і другий антигензв'язувальні фрагменти обидва представляють собою Fab-фрагменти й

мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL). В іншому такому варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, а другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR, представляє собою канонічну молекулу Fab.

В одному з варіантів здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену, а перший антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab другого антигензв'язувального фрагмента. У конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, практично складається з першого й другого антигензв'язувальних фрагментів, Fc-домену, що складається з першої й другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, де перший антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab другого антигензв'язувального фрагмента, а другий антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. В одному з таких варіантів здійснення винаходу перший і другий антигензв'язувальні фрагменти обидва представляють собою Fab-фрагменти й мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL). В іншому такому варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, а другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR, представляє собою канонічну молекулу Fab. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язувального фрагмента й легкий ланцюг Fab другого антигензв'язувального фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

В інших варіантах здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. У конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу другий антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента. У конкретному вказаному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, практично складається з першого й другого антигензв'язувальних фрагментів, Fc-домену, що складається з першої й другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, де другий антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента, а перший антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену. В одному з таких варіантів здійснення винаходу перший і другий антигензв'язувальні фрагменти обидва представляють собою Fab-фрагменти й мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL). В іншому такому варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, а другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR, представляє собою канонічну молекулу Fab. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язувального фрагмента й легкий ланцюг Fab другого антигензв'язувального фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

Антигензв'язувальні фрагменти можуть бути злиті з Fc-доменом або один з одним безпосередньо або через пептидний лінкер, що 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 $(G_4S)_n$ (SEQ ID NO: 300), $(SG_4)_n$ (SEQ ID NO: 301), $(G_4S)_n$ (SEQ ID NO: 300) або $G_4(SG_4)_n$ (SEQ ID NO: 302). Як правило, "n" означає число від 1 до 10, як правило, від 2 до 4. Найбільш придатним пептидним лінкером для злиття легких ланцюгів Fab першого й другого антигензв'язувальних фрагментів один з одним є $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO: 303). Прикладом пептидного лінкера, придатного для з'єднання важких ланцюгів Fab першого й другого антигензв'язувальних фрагментів є EPKSC(D)-(G₄S)₂ (SEQ ID NO: 304 і 305). Лінкери можуть додатково містити шарнірну ділянку імуноглобуліну (її частину). Зокрема, коли антигензв'язувальний фрагмент злитий на N-кінці субодиниці Fc-домену, то він може бути злитий за допомогою шарнірної ділянки імуноглобуліну або її частини з використанням або без використання додаткового пептидного лінкера.

При створенні даного винаходу було встановлено, що, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить два зв'язувальні фрагменти, специфічні відносно антигену клітини-мішені FolR, має більш кращі характеристики в порівнянні з біспецифічною антигензв'язувальною молекулою, що активує Т-клітину, що містить тільки один зв'язувальний фрагмент, специфічний відносно антигену клітини-мішені FolR.

Відповідно до цього в конкретних варіантах здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, містить також третій антигензв'язувальний фрагмент, який представляє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR. В одному з таких варіантів здійснення винаходу

другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять ідентичні послідовності гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга й CDR легкого ланцюга. В одному з таких варіантів здійснення винаходу третій антигензв'язувальний фрагмент ідентичний до другого антигензв'язувального фрагменту (тобто вони містять однакові амінокислотні послідовності).

В одному з варіантів здійснення винаходу перший і другий антигензв'язувальний фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену, а третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента. У конкретному такому варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, практично складається з першого, другого й третього антигензв'язувальних фрагментів Fc-домену, що складається з першої й другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, де перший і другий антигензв'язувальний фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену, а третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента. В одному з таких варіантів здійснення винаходу перший, другий і третій антигензв'язувальні фрагменти представляють собою канонічні Fab-фрагменти й мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL). В іншому такому варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, а другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR, представляють собою канонічну молекулу Fab. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язувального фрагмента й легкий ланцюг Fab третього антигензв'язувального фрагмента додатково можуть бути злиті один з одним.

Таким чином, у конкретних варіантах здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, містить п'ять поліпептидних ланцюгів, які утворюють перший, другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, де перший антигензв'язувальний фрагмент має здатність зв'язуватися з CD3, а другий і третій антигензв'язувальний фрагмент кожний має здатність зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1). Перший й другий поліпептидні ланцюги містять у напрямку від аміно- (N)-кінця до карбоксильного (C)-кінця варіабельний домен першого легкого ланцюга (VLD1) і константний домен першого легкого ланцюга (CLD1). Третій поліпептидний ланцюг містить у напрямку від N-кінця до C-кінця варіабельний домен другого легкого ланцюга (VLD2) і константний домен 1 другого важкого ланцюга (CH1D2). Четвертий поліпептидний ланцюг містить у напрямку від N-кінця до C-кінця варіабельний домен першого важкого ланцюга (VHD1), константний домен 1 першого важкого ланцюга (CH1D1), константний домен 2 першого важкого ланцюга (CH2D1) і константний домен 3 першого важкого ланцюга (CH3D1). П'ятий поліпептидний ланцюг містить VHD1, CH1D1, варіабельний домен другого важкого ланцюга (VHD2), константний домен другого легкого ланцюга (CLD2), константний домен 2 другого важкого ланцюга (CH2D2) і константний домен 3 другого важкого ланцюга (CH3D2). Третій поліпептидний ланцюг і VHD2 і CLD2 п'ятого поліпептидного ланцюга утворюють перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з CD3. Другий поліпептидний ланцюг і VHD1 і CH1D1 п'ятого поліпептидного ланцюга утворюють третій зв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з FolR1. Перший поліпептидний ланцюг і VHD1 і CH1D1 четвертого поліпептидного ланцюга утворюють другий зв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з FolR1.

В іншому варіанті здійснення винаходу другий і третій антигензв'язувальний фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої або другої субодиниці Fc-домену, а перший антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab другого антигензв'язувального фрагмента. У конкретному такому варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, практично складається з першого, другого й третього антигензв'язувальних фрагментів, Fc-домену, що складається з першої й другої субодиниць, і необов'язково одного або декількох пептидних лінкерів, де другий і третій антигензв'язувальний фрагмент кожний злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем першої субодиниці Fc-домену, а перший антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab третього антигензв'язувального фрагмента. В одному з таких варіантів здійснення винаходу перший,

другий і третій антигензв'язувальні фрагменти представляють собою канонічні Fab-фрагменти й вони мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL). В іншому такому варіанті здійснення винаходу перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, а другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR, представляють собою канонічну молекулу Fab. Необов'язково легкий ланцюг Fab першого антигензв'язувального фрагмента й легкий ланцюг Fab другого антигензв'язувального фрагмента можуть бути додатково злиті один з одним.

Антигензв'язувальні фрагменти можуть бути злиті з Fc-доменом безпосередньо або через пептидний лінкер. У конкретному варіанті здійснення винаходу кожний з антигензв'язувальних фрагментів злитий з Fc-доменом через шарнірну ділянку імуноглобуліну. У конкретному варіанті здійснення винаходу шарнірний ділянка імуноглобуліну представляє собою шарнірну ділянку людського IgG₁.

В одному з варіантів здійснення винаходу перший і другий антигензв'язувальні фрагменти й Fc-домен є частиною молекули імуноглобуліну. У конкретному варіанті здійснення винаходу молекула імуноглобуліну представляє собою імуноглобулін IgG-класу. У ще більш конкретному варіанті здійснення винаходу імуноглобулін представляє собою імуноглобулін IgG₁-підкласу. В іншому варіанті здійснення винаходу імуноглобулін представляє собою імуноглобулін IgG₄-підкласу. В іншому варіанті здійснення винаходу імуноглобулін представляє собою людський імуноглобулін. В інших варіантах здійснення винаходу імуноглобулін представляє собою химерний імуноглобулін або гуманізований імуноглобулін.

У конкретному варіанті вказаної біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, перший і другий антигензв'язувальні фрагменти й Fc-домен є частиною молекули імуноглобуліну, а третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента, де перший, другий і третій антигензв'язувальні фрагменти представляють собою канонічні Fab-фрагменти й мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL), де перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, містить принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 і SEQ ID NO: 34; і другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 18, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 і SEQ ID NO: 34.

У конкретному варіанті вказаної біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, перший і другий антигензв'язувальні фрагменти й Fc-домен є частиною молекули імуноглобуліну, а третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента, де перший, другий і третій антигензв'язувальні фрагменти представляють собою канонічні Fab-фрагменти й мають ідентичні легкі ланцюги (VLCL), де перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, містить варіабельний важкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 36, варіабельний легкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 31; а другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять варіабельний важкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 15, варіабельний легкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 31.

У конкретному варіанті вказаної біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, перший і другий антигензв'язувальні фрагменти й Fc-домен представляють собою частину молекули імуноглобуліну, а третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента й перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, у якій або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab вимінян, що містить принаймні один гіперваріабельна ділянка (CDR) важкого ланцюга, вибраний із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 і SEQ ID NO: 34; і другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містять принаймні одну гіперваріабельну ділянку (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 56 і SEQ ID NO: 57, і принаймні одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60 і SEQ ID NO: 65.

У конкретному варіанті вказаної біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує

Т-клітину, перший і другий антигензв'язувальні фрагменти й Fc-домен є частиною молекули імуноглобуліну, а третій антигензв'язувальний фрагмент злитий на С-кінці важкого ланцюга Fab з N-кінцем важкого ланцюга Fab першого антигензв'язувального фрагмента, і перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, представляє собою кросовер-молекулу Fab, у якій або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab обміняні, де перший антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, містить варіабельний важкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 36, варіабельний легкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 31; а другий і третій антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з FcR1, містять варіабельний важкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 55, варіабельний легкий ланцюг, що містить послідовність SEQ ID NO: 65.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, є одновалентною відносно кожного антигену. У конкретному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, може зв'язуватися з людським CD3 і людським фолатним рецептором альфа (FcR1) і вона сконструйована без застосування підходу на основі гетеродимеризації, такого, наприклад, як технологія "knob-into-hole". Наприклад, молекулу можна одержувати з використанням бібліотеки загальних легких ланцюгів і технології CrossMab. У конкретному варіанті здійснення винаходу варіабельну ділянку CD3-зв'язувального агента зливають із CH1-доменом стандартного людського антитіла у вигляді IgG1 з утворенням VL_{VH}-«схрещеної» молекули (зливої з Fc), яка є загальною для обох специфічностей. Для створення схрещених "копій" (VHCL) специфічний у відношенні CD3 варіабельний домен важкого ланцюга зливають із людським константним легким κ-ланцюгом, у той час як варіабельний домен важкого ланцюга, специфічний у відношенні людського FcR1 (наприклад, виділений з бібліотеки загальних легких ланцюгів) зливають із людським константним легким κ-ланцюгом. Отримана в результаті цього необхідна молекула із правильно спареними ланцюгами містить легкі й капа-, і лямбда-ланцюги або їх фрагменти. Потім ці необхідні види біспецифічної молекули можна очищати від неправильно спарених або гомодимерних видів, здійснюючи послідовно стадії очищення для легкого капа- і лямбда-ланцюгів в будь-якому порядку. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу очищення необхідного біспецифічного антитіла проводять за допомогою послідовних стадій очищення на колонках з KappaSelect і LambdaFabSelect (фірма GE Healthcare) для видалення небажаних гомодимерних антитіл.

Fc-домен

Fc-домен біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, складається з пари поліпептидних ланцюгів, що містять домени важкого ланцюга молекули імуноглобуліну. Наприклад, Fc-домен молекули імуноглобуліну G (IgG) представляє собою димер, кожна субодиниця якого містить константні домени CH2 і CH3 важкого ланцюга IgG. Дві субодиниці Fc-домену мають здатність до стабільної асоціації одна з одною. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована у винаході, містить не більше одного Fc-домену.

В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, представляє собою Fc-домен IgG. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен представляє собою Fc-домен IgG₁. В іншому варіанті здійснення винаходу Fc-домен представляє собою Fc-домен IgG₄. У більш конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен представляє собою Fc-домен IgG₄, що 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 IgG₄ (див. Stubenrauch і ін., Drug Metabolism and Disposition 38, 2010, стор. 84-91). В іншому конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен є людським. Приклад послідовності Fc-ділянки людського IgG₁ представлений в SEQ ID NO: 245.

Модифікації Fc-домену, що сприяють гетеродимеризації

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітину, запропоновані у винаході, містять різні антигензв'язувальні фрагменти, злиті з однієї або іншою із двох субодиниць Fc-домену, при цьому дві субодиниці Fc-домену, як правило, містяться у двох неідентичних поліпептидних ланцюгах. Рекombінантна спільна експресія цих поліпептидів і наступна димеризація приводить до декількох можливих комбінацій двох поліпептидів. Для підвищення виходу й чистоти біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, при їх одержанні методами рекombінації доцільно інтродукувати в Fc-домен біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, модифікацію, яка сприяє асоціації необхідних поліпептидів.

Таким чином, у конкретних варіантах здійснення винаходу Fc-домен біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, запропонованої у винаході, містить модифікацію, яка сприяє асоціації першої й другої субодиниці Fc-домену. Сайт найбільш сильного білок-білкової взаємодії двох субодиниць Fc-домену людського IgG знаходиться в СН3-домені Fc-домену. Таким чином, в одному з варіантів здійснення винаходу вказана модифікація знаходиться в СН3-домені Fc-домену.

У конкретному варіанті здійснення винаходу вказана модифікація представляє собою так звану модифікацію типу "knob-in-hole" (типу "виступ-впадина"), яка включає модифікацію, що приводить до утворення "виступу" на одній із двох субодиниць Fc-домену й модифікацію, що приводить до утворення "западини" в іншій одній із двох субодиниць Fc-домену.

Технологія "knob-into-hole" описана, наприклад, в US № 5731168; US № 7695936; в Ridgway i in., Prot Eng 9, 1996, стор. 617-621 і Carter, J Immunol Meth 248, 2001, стор. 7-15. У цілому, метод включає інтродукцію опуклості ("виступ") на поверхні розділу першого поліпептиду й відповідної порожнини ("западина") у поверхні розділу другого поліпептиду, у результаті опуклість може поміщатися в порожнину, сприяючи тим самим утворенню гетеродимеру й перешкоджаючи утворенню гомодимеру. Опуклості конструюють шляхом заміни амінокислот з невеликими боковими ланцюгами на поверхні розділу першого поліпептиду на амінокислоти з більшими боковими ланцюгами (наприклад, на тирозин або триптофан). Компенсуючі порожнини ідентичного або подібного з опуклостями розміру створюють в поверхні розділу другого поліпептиду шляхом заміни амінокислот з великими боковими ланцюгами на амінокислоти з менш великими боковими ланцюгами (наприклад, аланін або треонін).

Таким чином, у конкретному варіанті здійснення винаходу в СН3-домені першої субодиниці Fc-домену біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, амінокислотний залишок замінений амінокислотним залишком, який має більший об'єм бокового ланцюга, що приводить до утворення опуклості на СН3-домені першої субодиниці, яка може поміщатися в порожнину в СН3-домені другої субодиниці, і в СН3-домені другої субодиниці Fc-домену амінокислотний залишок замінений амінокислотним залишком, який має менший об'єм бокового ланцюга, що приводить до утворення порожнини в СН3-домені другої субодиниці, у яку може поміщатися опуклість на СН3-домені першої субодиниці.

Опуклість і порожнину можна створювати шляхом зміни нуклеїнових кислот, що кодуєть поліпептиди, наприклад, за допомогою сайтнаправленого мутагенезу або шляхом пептидного синтезу.

У конкретному варіанті здійснення винаходу в СН3-домені першої субодиниці Fc-домену залишок треоніну в положенні 366 замінений залишком триптофану (T366W), а в СН3-домені другої субодиниці Fc-домену залишок тирозину 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).

У 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 тирозину в положенні 349 замінений на залишок цистеїну (Y349C). Інтродукція вказаних двох залишків цистеїну приводить до утворення дисульфідного містка між двома субодиницями Fc-домену, тим самим додатково стабілізуючи димер (Carter, J Immunol Methods 248, 2001, стор. 7-15).

У конкретному варіанті здійснення винаходу антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з CD3, злитий (необов'язково через антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність зв'язуватися з антигеном FoIR1 на клітини-мішені) з першої субодиницею Fc-домену (яка містить модифікацію, що приводить до утворення "виступу").

Не вдаючись у яку-небудь теорію, злиття антигензв'язувального фрагмента, що має здатність зв'язуватися з CD3 з субодиницею Fc-домену, що містить "виступ", повинно (додатково) мінімізувати утворення антигензв'язувальних молекул, що містять два антигензв'язувальні фрагменти, що мають здатність зв'язуватися з CD3 (стеричне "зіткнення" двох поліпептидів, що містять "виступ").

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

Модифікації Fc-домену, що приводять до анулювання зв'язування з Fc-рецептором та/або ефекторної функції

Fc-домен надає біспецифічній антигензв'язувальній молекулі, що активує Т-клітину, кращі фармакокінетичні властивості, включаючи тривалий час напівжиття в сироватці, що забезпечує хороше накопичення в тканині-мішені й краще співвідношення розподілу в тканині-крові. Однак у той же час він може приводити до небажаної спрямованості біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, до клітин, які експресують Fc-рецептори, а не до переважних клітин, які несуть антиген. Крім того, спільна активація шляхів передачі сигналів Fc-рецептора може приводити до вивільнення цитокінів, що в комбінації із зумовлюючими активацію Т-клітини властивостями й тривалим часом напівжиття антигензв'язувальної молекули, приводить 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 біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, через можливу деструкцію Т-клітин, наприклад, НК-клітинами.

Таким чином, згідно з конкретними варіантами здійснення винаходу Fc-домен біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході, має знижену афінність зв'язування з Fc-рецептором та/або знижену ефекторну функцію в порівнянні з нативним Fc-доменом IgG₁. В одному із вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен (або біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить вказаний Fc-домен) характеризується афінністю зв'язування, що становить 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 IgG₁ (або біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить вказаний нативний Fc-домен IgG₁), та/або ефекторною функцією, що становить менше, ніж 50 %, переважно менше, ніж 20 %, більш переважно менше, ніж 10 % і найбільш переважно менше, ніж 5 % від ефекторної функції нативного Fc-домену IgG₁ (або біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить вказаний нативний Fc-домен IgG₁). В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен (або біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить вказаний Fc-домен) практично не зв'язується з Fc-рецептором та/або не індукує ефекторну функцію. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор представляє собою Fcγ-рецептор. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор представляє собою людський Fc-рецептор. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий Fc-рецептор. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий людський Fcγ-рецептор, більш конкретно людський FcγRIIIa, FcγRI або FcγRIIa, найбільш переважно людський FcγRIIIa. В одному з варіантів здійснення винаходу ефекторна функція представляє собою одну або декілька функцій, вибраних із групи, що включає CDC, ADCC, ADCP і секрецію цитокінів. У конкретному варіанті здійснення винаходу ефекторна функція представляє собою ADCC. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен характеризується практично такою ж афінністю зв'язування з неонатальним Fc-рецептором (FcRn), що й нативний Fc-домен IgG₁. Практично таке ж зв'язування з FcRn досягається, коли Fc-домен (або біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить вказаний Fc-домен), характеризується афінністю зв'язування, що становить більше ніж приблизно 70 %, переважно більше ніж приблизно 80 %, більш переважно більше ніж приблизно 90 %, від афінності зв'язування нативного Fc-домену IgG₁ (або біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить нативний Fc домен IgG₁) з FcRn.

Згідно з деякими варіантами здійснення винаходу Fc-домен конструюють так, щоб він мав знижену афінність зв'язування з Fc-рецептором та/або знижену ефекторну функцію в порівнянні з не підданим інженерії Fc-доменом. У конкретних варіантах здійснення винаходу Fc-домен біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, містить одну або декілька амінокислотних мутацій, які знижують афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором та/або ефекторну функцію. Як правило, у кожній із двох субодиниць Fc-домену присутня (i) 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 раз або принаймні в 10 разів. Згідно з варіантами здійснення винаходу, у 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 принаймні в 50 разів. В одному з варіантів здійснення винаходу біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітини, що містить сконструйований Fc-домен, характеризується афінністю зв'язування, що становить менше, ніж 20 %, зокрема, менше, ніж 10 %, більш переважно менше, ніж 5 % від афінності зв'язування з Fc-рецептором, характерної для біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, що містить не підданий інженерії Fc-домен. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор представляє собою Fcγ-рецептор. У деяких варіантах здійснення винаходу Fc-рецептор представляє собою людський Fc-рецептор. У деяких варіантах здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий Fc-рецептор. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-рецептор являє собою активуючий людський Fc-рецептор, більш конкретно людський FcγRIIIa, FcγRI або FcγRIIa, найбільш переважно людський FcγRIIIa. Переважно зменшується зв'язування з кожним із цих рецепторів. Згідно з деякими варіантами здійснення винаходу знижується також афінність зв'язування з компонентом системи комплементу, зокрема, афінність зв'язування з C1q. Відповідно до одного з варіантів здійснення винаходу не знижується афінність зв'язування з неонатальним Fc-рецептором (FcRn). Практично таке ж зв'язування з FcRn, тобто збереження афінності зв'язування Fc-домену із вказаним рецептором, досягається, коли Fc-домен (або біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітини, що містить вказаний Fc-домен) характеризується афінністю зв'язування з FcRn, що становить більше ніж приблизно 70 % від афінності зв'язування з FcRn не підданої інженерії форми Fc-домену (або біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, що містить вказану не піддану інженерії форму Fc-домену). Fc-домен або біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, що містять вказаний Fc-домен, можуть характеризуватися афінністю, що становить більше ніж приблизно 80 % і навіть більше ніж приблизно 90 % від вказаної вище афінності. У деяких варіантах здійснення винаходу Fc-домен біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, створюють так, щоб він мав знижену ефекторну функцію в порівнянні з не підданим інженерії Fc-доменом. Знижена ефекторна функція може представляти собою (але не обмежуючись тільки ними) знижену (i) одну або декілька з наступних функцій: знижена комплементзалежна цитотоксичність (CDC), знижена антитіло-зумовлена клітиннозалежна цитотоксичність (ADCC), знижений антитіло-зумовлений клітиннозалежний фагоцитоз (ADCP), знижена секреція цитокінів, знижене опосередковане імунним комплексом поглинання антигену 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 примування. В одному з варіантів здійснення винаходу знижена ефекторна функція представляє собою одну або декілька функцій, вибраних із групи, що включає знижену CDC, знижену ADCC, знижений ADCP і знижену секрецію цитокінів. У конкретному варіанті здійснення винаходу знижена ефекторна функція представляє собою знижену ADCC. В одному з варіантів здійснення винаходу знижений ADCC становить менше 20 % від ADCC, індукованої не підданим інженерії Fc-доменом (або біспецифічною антигензв'язувальною молекулою, що активує Т-клітини, що містить не підданий інженерії Fc-домен).

В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотна мутація, яка знижує афінність зв'язування Fc-домену з Fc-рецептором та/або ефекторну функцію, представляє 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. У більш конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну заміну в положенні, вибраному з L234, L235 і P329. У деяких варіантах здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотні заміни L234A і L235A. В одному із вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен представляє собою Fc-домен IgG₁, зокрема, Fc-домен людського IgG₁. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотну заміну в положенні P329. У більш конкретному варіанті здійснення винаходу амінокислотний заміна представляє 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. У більш конкретному варіанті здійснення винаходу додатковий амінокислотна заміна представляє собою E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D або P331S. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотні заміни в положеннях P329, L234 і L235. У більш конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен містить амінокислотні мутації L234A, L235A і P329G ("P329G LALA"). В одному із

вказаних варіантів здійснення винаходу Fc-домен представляє собою Fc-домен IgG₁, насамперед Fc-домен людського IgG₁. Комбінація амінокислотних заміन "P329G LALA" практично повністю елімінує зв'язування з Fcγ-рецептором Fc-домену людського IgG₁, що описано в публікації 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 IgG₄ мають знижену афінність до зв'язування з Fc-рецепторами й знижені ефекторні функції в порівнянні з антитілами підкласу IgG₁. Таким чином, у деяких варіантах здійснення винаходу Fc-домен біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході, представляє собою Fc-домен IgG₄, зокрема Fc-домен людського IgG₄. В одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен IgG₄ містить амінокислотні заміни в положенні S228, конкретно амінокислотну заміну S228P. Для додаткового зниження афінності зв'язування з Fc-рецептором та/або його ефекторної функції в одному з варіантів здійснення винаходу Fc-домен IgG₄ містить амінокислотну заміну в положенні L235, зокрема, амінокислотну заміну L235E. В іншому варіанті здійснення винаходу Fc-домен IgG₄ містить амінокислотну заміну в положенні P329, зокрема, амінокислотну заміну P329G. У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен IgG₄ містить амінокислотні заміни в положеннях S228, L235 і P329, зокрема, амінокислотні заміни S228P, L235E і P329G. Вказані мутанти Fc-домену IgG₄ і їх особливості зв'язування з Fcγ-рецептором описані в публікації PCT WO 2012/130831 PCT/EP2012/055393, яка повністю включена в даний опис як посилання.

У конкретному варіанті здійснення винаходу Fc-домен, що характеризується зниженою афінністю зв'язування з Fc-рецептором та/або зниженою ефекторною функцією в порівнянні з нативним Fc-доменом IgG₁, представляє собою Fc-домен людського IgG₁, що містить амінокислотні заміни L234A, L235A і необов'язково P329G, або Fc-домен людського IgG₄, що містить амінокислотні заміни S228P, L235E і необов'язково P329G.

У деяких варіантах здійснення винаходу елімінували N-глікозиловані Fc-домени. В одному із 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 й у публікації PCT WO 2012/130831, Fc-домени зі зниженою здатністю зв'язуватися з Fc-рецептором та/або ефекторною функцією включають також Fc-домени із заміною одного або декількох залишків 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 (US № 637056). До вказаних мутантів Fc належать мутанти Fc із замінами у дві або більшої 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 у даній галузі. Генетичні методи можуть включати сайтнаправлений мутагенез кодуєчої 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 обладнання BIAcore (фірма GE Healthcare), і із застосуванням таких Fc-рецепторів, які можна одержувати методом рекомбінантної експресії. Прийнятний вказаний аналіз зв'язування представлений у даному описі. Альтернативно до цього, афінність зв'язування Fc-доменів або біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують клітини, що 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 біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини, що містить Fc-домен, можна оцінювати методами, відомими в даній галузі. Прийнятний аналіз для оцінки ADCC представлений у даному описі. Інші приклади аналізів *in vitro*, призначених для оцінки ADCC-активності молекули, що представляє інтерес, описано в US № 5500362; в Hellstrom і ін., Proc Natl Acad Sci USA 83, 1986, стор. 7059-7063 і Hellstrom і ін., Proc Natl Acad Sci USA 82, 1985, стор. 1499-1502; US № 5821337; в Bruggemann і ін., J Exp Med 166, 1987, стор. 1351-1361. Альтернативно до цього, можна застосовувати методи, засновані на нерадіоактивному аналізі (див., наприклад, АСТІ™ - нерадіоактивний аналіз цитотоксичності за допомогою проточної цитометрії (фірма Celltechnology, Inc. Маунтин-Вью, шт. Каліфорнія); і Cytotox 96® - нерадіоактивний аналіз цитотоксичності (фірма Promega, Медисон, шт. Вісконсин)). Прийнятними ефекторними клітинами для таких аналізів є мононуклеарні клітини

периферичної крові (PBMС) 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 тваринних моделях, описаних в Clynes і ін., *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 1998, стор. 652-656.

У деяких варіантах здійснення винаходу знижують зв'язування Fc-домену з компонентом системи комплементу, зокрема з C1q. Таким чином, у деяких варіантах здійснення винаходу, у яких Fc-домен конструюють так, щоб він мав знижену ефекторну функцію, вказана знижена ефекторна функція включає знижену CDC. Можна здійснювати аналізи зв'язування C1q для вирішення питання про те, чи може біспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка активує Т-клітини, зв'язуватися з C1q і, як наслідок, чи має вона CDC-активність (див., наприклад, аналізи зв'язування з C1q і C3с за допомогою ELISA, описані в WO 2006/029879 і WO 2005/100402). Для оцінки активації комплементу можна здійснювати аналіз CDC (див., наприклад, Gazzano-santoro і ін., *J Immunol Methods* 202, 1996, с. 163; Cragg і ін., *Blood* 101, 2003, стор. 1045-1052 і Cragg і Glennie, *Blood* 103, 2004, стор. 2738-2743).

Біологічні властивості й функціональні характеристики біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини

Фахівцям в даній галузі повинно бути очевидно, що молекула, яка має здатність вибірково розрізняти ракові й неракові здорові клітини має перевагу з погляду ефективності. Одним зі шляхів досягнення вказаної мети є відповідна спрямована селекція. Маркери, які експресуються винятково на пухлинних клітинах, можна застосовувати для вибіркового націлювання ефекторних молекул або клітин на пухлинні клітини, не зачіпаючи здорових клітин, які не експресують такий маркер. Однак, у деяких випадках так звані маркери пухлинних клітин експресуються також і в здоровій тканині, хоча й з більш низькими рівнями. Така експресія в здоровій тканині може викликати токсичність. Таким чином, у даній галузі існує необхідність у молекулах, які можуть більш вибірково націлюватися на пухлинні клітини. У винаході, представленому в даному описі, запропоновані біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітину, які вибірково націлюються на FolR1-позитивні пухлинні клітини, а не на здорові неракові клітини, які характеризуються низькими рівнями експресії FolR1 або повною відсутністю його експресії. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить принаймні два, переважно два FolR1-зв'язувальних фрагменти що мають відносно низьку афінність, що забезпечує ефект авідності, який дозволяє розрізняти клітини з високим і низьким рівнем експресії FolR1. Оскільки пухлинні клітини характеризуються високим або проміжним рівнем експресії FolR1, то молекула, запропонована в цьому варіанті здійснення винаходу, вибірково зв'язується з пухлинними клітинами та/або індукує цитоліз пухлинних клітин, але не здорових неракових клітин, що характеризуються низькими рівнями експресії FolR1 або повною її відсутністю. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, має формат "2+1 інвертована". В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз FolR1-позитивних пухлинних клітин, але не непухлинних клітин, і містить зв'язувальний антиген CD3 фрагмент, який містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34, і два фрагмента, що зв'язують антиген FolR1, кожний з яких містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54.

В одному конкретному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, не індукує цитоліз здорових клітин, на поверхні яких присутньо менше, ніж приблизно 1000 копій FolR1.

Крім вказаних вище переважних характеристик в одному з варіантів здійснення винаходу для одержання молекули не потрібно здійснювати хімічним шляхом перехресне зшивання або застосовувати підхід на основі гібридів. Відповідно до цього в одному з варіантів здійснення винаходу запропонована біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка може продукуватися в клітинах CHO. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить гуманізовані й людські поліпептиди. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, не приводить до перехресного зв'язування з Fc γ R. В одному з таких варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує

T-клітину, може продукуватися в клітинах CHO і містить зв'язувальний антиген CD3 фрагмент, який містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 і два фрагмента, що зв'язують антиген FolR1, кожний з яких містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54.

Як вказано вище, у деяких варіантах здійснення винаходу, представлених у даному описі, запропоновані, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують T-клітини, що мають два зв'язувальні фрагменти, які забезпечують специфічне зв'язування з FolR1, і один зв'язувальний фрагмент, який забезпечує специфічність у відношенні антигену CD3, що активує T-клітину, де кожний індивідуальний зв'язувальний FolR1 фрагмент характеризується низькою афінністю до антигену. Але, проте, оскільки молекула містить два антигензв'язувальні фрагменти, які забезпечують зв'язування з FolR1, то загальна авідність молекули забезпечує ефективне зв'язування з клітинами-мішенями, що експресують FolR1, й активацію T-клітин для індукції T-клітинної ефекторної функції. Враховуючи, що хоча FolR1 експресується в різних рівнях на пухлинних клітинах, він експресується також у дуже малих рівнях (наприклад, у кількості менше, ніж 1000 копій/поверхню клітини) у певних здорових клітинах, фахівець у даній галузі легко може зрозуміти, що така молекула має перевагу з точки зору ефективності при застосуванні як терапевтичний агент. Така молекула вибірково націлюється на пухлинні клітини в порівнянні зі здоровими клітинами. Таким чином, вказану молекулу можна вводити індивідуумові, який цього потребує, з меншим побоюванням відносно токсичності у відношенні FolR1-позитивних здорових клітин у порівнянні з молекулами, які зв'язуються з FolR1 з високою афінністю, індукуючи ефекторну функцію. У переважному варіанті здійснення винаходу, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують T-клітини, характеризуються одновалентною афінністю зв'язування з huFolR1, що знаходиться в мікромолярному діапазоні, і авідністю до huFolR1, що знаходиться в наномолярному діапазоні.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з уявною величиною K_D , що становить від приблизно 10 до приблизно 40 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з уявною величиною K_D , що становить приблизно 10 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 і FolR1 мавп циномолгус із уявною величиною K_D , що становить приблизно 10 нМ і приблизно 30 нМ відповідно. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить приблизно 1000 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить 1400 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить приблизно 1400 нМ, і з FolR1 мавп циномолгус із величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить приблизно 5600 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з уявною величиною K_D , що становить приблизно 10 нМ і з величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить приблизно 1400 нМ.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з уявною величиною K_D , що становить від приблизно 5,36 пМ до приблизно 4 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 і FolR1 мавп циномолгус із уявною величиною K_D , що становить приблизно 4 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з мишиним FolR1 з уявною величиною K_D , що становить приблизно 1,5 нМ. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 з величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить принаймні приблизно 1000 нМ. У конкретному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує T-клітину, зв'язується з людським FolR1 і FolR1 мавп циномолгус із уявною величиною K_D , що становить

приблизно 4нМ, зв'язується з мишиним FcR1 з уявною величиною K_D , що становить приблизно 1,5нМ, і містить зв'язувальний антиген CD3 фрагмент, який містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 і два фрагмента, що зв'язують антиген FcR1, кожний з яких містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, зв'язується з FcR1 з величиною K_D , що характеризує одновалентне зв'язування, що становить принаймні приблизно 1000 нМ і містить зв'язувальний антиген CD3 фрагмент, який містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 і два фрагмента, що зв'язують антиген FcR1, кожний з яких містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54.

Як вказано вище, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, представлені в даному описі, можуть індукувати Т-клітинну ефекторну функцію, наприклад, експресію маркера клітинної поверхні, виробництво цитокінів, опосередковуваний Т-клітиною цитоліз. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз клітини-мішені, що експресує FcR1, такої як людська пухлинна клітина, *in vitro*. В одному з варіантів здійснення винаходу Т-клітина представляє собою CD8-позитивну Т-клітину. Приклади людських пухлинних клітин, які експресують FcR1, включають (але не обмежуючись тільки ними) клітини HeLa, SKOV-3, HT-29 і HRCePc. Фахівцям в даній галузі легко доступні й інші FcR1-позитивні людські ракові клітини, які можна застосовувати для тестування *in vitro*. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз людських пухлинних клітин, які експресують FcR1, *in vitro* з величиною EC_{50} , що становить від приблизно 36 пМ до приблизно 39573 пМ, через 24 год. Конкретно запропоновані, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, які індукують опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FcR1, *in vitro* з величиною EC_{50} , що становить приблизно 36 пМ, через 24 год. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, індукує опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FcR1, *in vitro* з величиною EC_{50} , що становить приблизно 178,4 пМ, через 24 год. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинної клітини, яка експресує FcR1, *in vitro* з величиною EC_{50} , що становить приблизно 134,5 пМ або більше, через 48 год. Величину EC_{50} можна вимірювати методами, відомими в даній галузі, наприклад, методами, представленими в даному описі в прикладах.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу, індукує підвищувальну регуляцію експресії на поверхні Т-клітини принаймні одного з CD25 і CD69 за даними вимірювань за допомогою проточної цитометрії. В одному з варіантів здійснення винаходу Т-клітина представляє собою CD4-позитивну Т-клітину або CD8-позитивну Т-клітину.

В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, зв'язується з FcR1, що експресується на людській пухлинній клітині. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, зв'язується з конформаційним епітопом на людському FcR1. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, не зв'язується з людським фолатним рецептором 2 (FcR2) або з людським фолатним рецептором 3 (FcR3). В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу, антигензв'язувальний

фрагмент зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислоти з 25 по 234 людського FolR1 (SEQ ID NO: 227). В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої в будь-якому із представлених вище варіантів здійснення винаходу фрагмент, що зв'язує антиген FolR1, зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 227, з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 230, і з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 231, і при цьому зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент не зв'язується з поліпептидом FolR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 228 або 229. В одному конкретному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент, який зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 227, 230 і 231, і при цьому зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент не зв'язується з поліпептидом FolR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 228 або 229, і містить зв'язувальний антиген CD3 фрагмент, який містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34 і два фрагмента, що зв'язують антиген FolR1, кожний з яких містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 9, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 50, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 52, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 53, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 54.

В одному з варіантів біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої в будь-якому із представлених вище варіантах здійснення винаходу фрагмент, що зв'язує антиген FolR1, зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 227 і з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 231, і при цьому зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент не зв'язується з поліпептидом FolR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 228, 229 або 230. В одному конкретному варіанті здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, містить зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент, який зв'язується з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 227, і з поліпептидом FolR1, що містять амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 231, і при цьому зв'язувальний антиген FolR1 фрагмент не зв'язується з поліпептидом FolR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 228, 229 або 230, і містить зв'язувальний антиген CD3 фрагмент, який містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 37, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 38, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 39, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 SEQ ID NO: 34 і два фрагмента, що зв'язують антиген FolR1, кожний з яких містить CDR1 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 16, CDR2 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 275, CDR3 важкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 315, CDR1 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 33, і CDR3 легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 34.

У відношенні FolR1 біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітину, представлені в даному описі, можуть мати агоністичну, антагоністичну або нейтральну дію. Приклади агоністичної дії включають індукцію або посилення передачі сигналу через FolR1 після контакту зв'язувального FolR1 фрагмента з рецептором FolR1 на клітині-мішені. Приклади антагоністичної активності включають анулювання або зниження передачі сигналу через FolR1. Це може, наприклад, мати місце в результаті блокади або ослаблення взаємодії фолату з FolR1. У представлені в даному описі варіантах здійснення винаходу конкретно передбачаються варіанти послідовностей, що мають більш низьку афінність при збереженні описаних вище біологічних властивостей.

Імунокон'югати

Винахід стосується також імунокон'югатів, що містять біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, кон'юговану із цитотоксичним агентом, таким як хіміотерапевтичний засіб, агент, що інгібує ріст, токсин (наприклад, токсин, що має ферментативну активність, бактеріального, грибового, рослинного або тваринного походження або його фрагменти), або радіоактивний ізотоп (тобто радіокон'югат).

Полінуклеотиди

Винахід стосується також виділених полінуклеотидів, які кодують біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітини, представлену в даному описі, або її фрагмент.

Полінуклеотиди, запропоновані у винаході, включають полінуклеотиди, послідовності яких принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, або 100 % ідентичні до

послідовностей, представлених в SEQ ID NO: 151-226, включаючи їх функціональні фрагменти або варіанти.

Полінуклеотиди, що кодують біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна експресувати у вигляді індивідуального полінуклеотиду, який кодує повну біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, або у вигляді декількох (наприклад, двох або більшої кількості) спільно експресованих полінуклеотидів. Поліпептиди, які кодуються спільно експресованими полінуклеотидами, можна з'єднувати, наприклад, через дисульфідні зв'язки або іншими шляхами з утворенням функціональної біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину. Наприклад, частина антигензв'язувального фрагмента, що представляє собою легкий ланцюг, може кодуватися полінуклеотидом, відмінним від полінуклеотиду, що кодує частину біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить частину антигензв'язувального фрагмента, що представляє собою важкий ланцюг, субодиницю Fc-домену й необов'язково (частину) іншого антигензв'язувального фрагмента. При спільній експресії поліпептиди важкого ланцюга повинні зв'язуватися з поліпептидами легкого ланцюга з утворенням антигензв'язувального фрагмента. В іншому прикладі частина біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить одну із двох субодиниць Fc-домену й необов'язково один або декілька (частина одного або декількох) антигензв'язувальних фрагментів, може кодуватися полінуклеотидом, відмінним від полінуклеотиду, який кодує частина антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що містить другу із двох субодиниць Fc-домену й необов'язково (частину) антигензв'язувальний фрагмент. При спільній експресії субодиниць Fc-домену повинні зв'язуватися з утворенням Fc-домену.

У деяких варіантах здійснення винаходу виділений полінуклеотид кодує повну вказану в даному описі біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході. В інших варіантах здійснення винаходу виділений полінуклеотид кодує поліпептиди, що входять у вказану в даному описі біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході.

Інший варіант здійснення даного винаходу стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки, представлену в SEQ ID NO: 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182 id 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223.

Інший варіант здійснення даного винаходу стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, 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, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 1, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244. Інший варіант здійснення даного винаходу стосується також виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її

фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка принаймні приблизно 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична до нуклеотидної послідовності, представленій в SEQ ID NO: 97, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 12, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 246, 247. Інший варіант здійснення даного винаходу стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її

фрагмент, де полінуклеотид містить нуклеотидну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 97, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 12, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 246, 247. Інший варіант здійснення даного винаходу стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її

фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки, яка принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15, 19, 21, 12, 25, 27, 29, 31, 36, 41, 45, 49, 51, 55, 58, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 82, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 12, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135. Інший варіант здійснення даного винаходу стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує поліпептид, що містить одну або декілька послідовностей, які принаймні на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, або 99 % ідентичні амінокислотній послідовності, представленої в SEQ ID NO: 8, 9, 50, 37, 38 і 39. Даний винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує послідовність варіабельної ділянки, представленої в SEQ ID NO: 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182 і 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223 з консервативними амінокислотними замінами. Під обсяг винаходу підпадає також виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її фрагмент, де полінуклеотид містить послідовність, яка кодує поліпептидну послідовність, представленої в SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 1, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138 і 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244 з консервативними амінокислотними замінами.

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

Методи рекомбінації

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна одержувати, наприклад, шляхом твердофазного пептидного синтезу (наприклад, твердофазний синтез Меріфілда) або методом рекомбінації. Для рекомбінантного одержання один або декілька полінуклеотидів, що кодують біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину (фрагмент), наприклад, описану вище, виділяють і вбудовують в один або декілька векторів для додаткового клонування та/або експресії в клітині-хазяїні. Вказаний полінуклеотид можна легко виділяти й секвенувати за допомогою загальноприйнятих процедур. Одним з варіантів здійснення винаходу є вектор, переважно експресійний вектор, що містить один або декілька полінуклеотидів, запропонованих у винаході. Методи, добре відомі фахівцям у даній галузі, можна застосовувати для конструювання експресійних векторів, що містять кодуючу послідовність біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, (фрагмента) разом із прийнятними контролюючими транскрипцію/трансляцію сигналами. Ці методи включають технології рекомбінантної ДНК *in vitro*, методи синтезу й рекомбінації/ генетичної рекомбінації *in vivo* (див., наприклад, методи, описані в Maniatis і ін., Maniatis і ін., *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1989; і Ausubel і ін., *Current Protocols in Molecular Biology*, вид-во Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989). Експресійний вектор може представляти собою частину плазміди, вірусу або може представляти собою фрагмент нуклеїнової кислоти. Експресійний вектор включає касету експресії, у якій полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину (фрагмент) (тобто кодуюча ділянка), клонують із забезпеченням функціонального зв'язку із промотором та/або іншими елементами, що контролюють транскрипцію або трансляцію. У контексті даного опису « кодуюча ділянка » представляє собою частину нуклеїнової кислоти, яка складається з кодонів, трансльованих в амінокислоти. Хоча "стоп-кодон" (TAG, TGA або TAA) не трансльється в амінокислоту, він, у випадку його присутності, може розглядатися як частина кодуючої ділянки, однак будь-які фланкуючі послідовності, наприклад, промотори, сайти зв'язування рибосом, термінатори транскрипції, інтрони, 5'- і 3'-нетрансльовані ділянки й т.п., не є частиною кодуючої ділянки. Дві або більша кількість кодуючих ділянок можуть бути присутні 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 у даному винаході, може кодувати один або декілька поліпептидів, які пост- або котрансляційно 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, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину (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 була під впливом або контролем регуляторної (их) послідовності(ей). Два ДНК-фрагменти (таких як кодуюча ділянка поліпептиду й асоційований з нею промотор) є "функціонально зв'язаними", якщо індукція промоторної функції приводить до транскрипції мРНК, що кодує необхідний генний продукт, і якщо природа зв'язку між двома ДНК-фрагментами не виявляє впливу на здатність регулюючих експресію послідовностей направляти експресію генного продукту, або не виявляє впливу на здатність ДНК-матриці до транскрипції. Таким чином, промоторна ділянка повинна бути функціонально зв'язана з нуклеїновою кислотою, що кодує поліпептид, якщо промотор має здатність здійснювати транскрипцію нуклеїнової кислоти. Промотор може представляти собою специфічний для клітини промотор, який забезпечує значну транскрипцію ДНК тільки в попередньо відібраних клітинах. Інші контролюючі транскрипцію елементи, крім промотору, наприклад, енхансери, оператори, репресори й сигнали термінації транскрипції, можна функціонально зв'язувати з полінуклеотидом для забезпечення специфічної для клітини транскрипції. Прийнятні промотори й інші контролюючі транскрипцію ділянки представлені в даному описі. Фахівцям у даній галузі відомо широка різноманітність контролюючих транскрипцію ділянок. вони включають (але не обмежуючись тільки ними) контролюючі транскрипцію ділянки, які функціонують у клітинах хребетних тварин, такі як (але не обмежуючись тільки ними) сегменти промоторів і енхансерів із цитомегаловірусів (наприклад, негайно-ранній промотор у комбінації з інтроном-а), мавпячого вірусу 40 (наприклад, ранній промотор) і ретровірусів (таких як вірус саркоми Рауса). Інші контролюючі транскрипцію ділянки включають ділянки, виведені з генів хребетних тварин, таких як ген актину, білка теплового шоку, бичачого гормону росту й кролячого β -глобіну, а також інші послідовності, які можуть контролювати експресію генів в еукаріотичних клітинах. Додаткові прийнятні контролюючі транскрипцію ділянки включають тканиннспецифічні промотори й енхансери, а також індукційбельні промотори (наприклад, промотори, індуковані тетрациклінами). Аналогічно до цього, звичайним фахівцям у даній галузі відомо широка різноманітність контролюючих трансляцію елементів. вони включають (але не обмежуючись тільки ними) сайти зв'язування рибосом, кодони ініціації трансляції й термінуючі кодони й елементи, виведені 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 та/або інтегровані в хромосому елементи, такі як довгі кінцеві повтори (LTR) ретровірусів, або інвертовані кінцеві повтори (ITR) аденоасоційованого вірусу (AAV).

Кодуючі ділянки полінуклеотиду й нуклеїнової кислоти, запропоновані в даному винаході, можуть бути асоційовані з додатковими кодуючими ділянками, які кодують секреторні або сигнальні пептиди, які направляють секрецію поліпептиду, кодованого полінуклеотидом, запропонованим у даному винаході. Наприклад, якщо потрібна секреція біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, то ДНК сигнальну кодуючу послідовність можна поміщати проти ходу транскрипції відносно нуклеїнової кислоти, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, або її фрагмент. Згідно з гіпотезою, що стосується сигналів, білки, секретовані 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 фахівцям у даній галузі повинно бути очевидно, що поліпептиди, секретовані 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. У деяких варіантах здійснення винаходу використовують нативний сигнальний пептид, наприклад, сигнальний пептид важкого ланцюга або легкого ланцюга імуноглобуліну або функціональне похідне вказаної послідовності,

яке зберігає здатність забезпечувати секрецію поліпептиду, функціонально зв'язаного з ним. Альтернативно до цього, можна застосовувати гетерологічний сигнальний пептид ссавців або його функціональне похідне. Наприклад, лідерну послідовність дикого типу можна замінити на лідерну послідовність людського тканинного активатора плазміногену (ТРА) або мишиної β -глюкуронідази.

ДНК, що кодує коротку білкову послідовність, яку можна застосовувати для полегшення подальшого очищення (наприклад, гістидинову мітку), або призначену для мічення, біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, можна включати усередину або на кінці полінуклеотиду, що кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину (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 й вектори можуть мати будь-які особливості, індивідуально або в комбінації, вказаними в даному описі відносно полінуклеотидів і векторів відповідно. В одному з таких варіантів здійснення винаходу клітина-хазяїн містить (наприклад, трансформована або трансфектована) вектором, що містить полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході (або її частину). У контексті даного опису поняття "клітина-хазяїн" стосується будь-якого типу клітинної системи, яку можна конструювати для одержання біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході, або їх фрагментів. Клітини-хазяїна, придатні для реплікації й для підтримки експресії біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, добре відомі в даній галузі. Такі клітини можна трансфектувати або трансдукувати відповідним чином конкретним експресійним вектором і можна вирощувати більшу кількість клітин, що містять вектор, з метою внесення у ферментери для великомасштабних процесів одержання біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, в достатніх для клінічних застосувань кількостях. Прийнятими клітинами-хазяїнами є прокариотичні мікроорганізми, такі як *E. coli*, або різні 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 у розчинну фракцію й можна додатково очищати. Крім прокариот, як хазяїни для клонування або експресії векторів, які кодують поліпептид, можна використовувати еукаріотичні мікроорганізми, такі як нитчаті гриби або дріжджі, включаючи штами грибів і дріжджів, шляхи глікозилювання яких були "гуманізовані", що дозволяє одержувати поліпептид із частково або повністю людською схемою глікозилювання (див. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22, 2004, стор. 1409-1414 і Li і ін., *Nat. Biotech.* 24, 2006, стор. 210-215). Клітини-хазяїна, які можна використовувати для експресії (глікозилюваних) поліпептидів, одержують також з багатоклітинних організмів (безхребетних і хребетних тварин). Прикладами клітин безхребетних є клітини комах, а також можна застосовувати клітини рослин. Були виявлені численні бакуловірусні штами й відповідні придатні для них як хазяїв клітини комах, насамперед для трансфекції клітин *Spodoptera frugiperda*. Як хазяїни можна застосовувати також культури рослинних клітин (див., наприклад, US №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 і 6417429 (опис технології PLANTIBODIES™ для одержання антитіл у трансгенних рослинах). Як хазяїни можна застосовувати також клітини хребетних тварин. Наприклад, можна використовувати клітинні лінії ссавців, які адаптовані до росту в суспензії. Іншими прикладами прийнятних ліній клітин-хазяїн 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 суспензійній культурі, Graham і ін., *J. Gen. Virol.*, 36, 1977, с. 59); клітини нирки дитини хом'яка (BHK); клітини Сертолї миші (TM4-клітини, описані, наприклад, в Mather, *Biol. Reprod.*, 23, 1980, стор. 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, в Mather і ін., *Annals N.Y. Acad. Sci.*, 383, 1982, стор. 44-68); клітини MRC 5 і клітини FS4. Іншими кошковими лініями клітин-хазяїн ссавців є клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), включаючи dhfr-CHO-клітини (Urlaub і 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-хазяїн ссавців, які можна застосовувати для виробництва білка, див., наприклад, в Yazaki і Wu, в: *Methods in Molecular Biology* під ред. B.K.C. Lo, вид-во Humana Press, Totowa, NJ, т. 248, 2003, стор. 255-268. Клітини-хазяїна 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 представляє собою еукаріотичну клітину, переважно клітину ссавця, 5
таку як клітина яєчника китайського хом'ячка (CHO), клітина нирки людського ембріона (HEK) або лімфоїдна клітина (наприклад, клітина Y0, NS0, Sp20).

У даній галузі відомі стандартні технології для експресії чужорідних генів у цих системах. Клітини, що експресують поліпептид, що містить або важкий або легкий ланцюг антигензв'язувального домену, такого як антитіло, можна конструювати таким чином, щоб у них 10
відбувалася 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 біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході, що полягає в тому, що культивують клітину-хазяїна, що містить полінуклеотид, який кодує біспецифічну 15
антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, представлену в даному описі, в умовах, придатних для експресії біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, і необов'язково виділяють біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину із клітини-хазяїна (або культурального середовища клітини-хазяїна).

Компоненти біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, генетично 20
зливають один з одним. Біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, 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 у даній галузі, і можна оцінювати ефективність. Приклади лінкерних послідовностей, розташованих між різними компонентами, біспецифічної 25
антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, представлені в наведених в даному описі послідовностях. Можна включати також додаткові послідовності для вбудовування сайту розщеплення, якщо потрібне поділ індивідуальних компонентів злиття, наприклад, послідовність, яка розпізнається ендопептидазою.

У деяких варіантах здійснення винаходу один або декілька антигензв'язувальних фрагментів 30
біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини містить (ять) принаймні варіабельну ділянку антитіла, що має здатність зв'язуватися з антигенною детермінантою. Варіабельні ділянки можуть утворювати частину антитіл, що зустрічаються в природніх умовах або антитіл, що не зустрічаються в природніх умовах, або їх фрагментів або можуть бути виведені з них. Методи одержання поліклональних антитіл і моноклональних антитіл добре 35
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 природніх 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, що містять варіабельні ділянки важких 40
ланцюгів і варіабельні ділянки легких ланцюгів (див., наприклад, US № 5969108 на ім'я McCafferty).

Антитіла, фрагменти антитіл, антигензв'язувальні домени або варіабельні ділянки з будь- 45
яких видів тварин можна застосовувати в біспецифічних антигензв'язувальних молекулах, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході. Прикладами антитіл, фрагментів антитіл, антигензв'язувальних доменів або варіабельних ділянок, які можна застосовувати згідно із даним винаходом, є (але не обмежуючись тільки ними) конструкції, отримані з організму мишей, приматів або людини. Якщо, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, 50
призначена для застосування на людині, то можна використовувати химерну форму антитіла, у якій константні ділянки антитіла одержують із людського антитіла. Гуманізовану або повністю людську форму антитіла можна одержувати також за допомогою методів, добре відомих у даній галузі (див., наприклад, US № 5565332 на ім'я Winter). Для здійснення гуманізації можна застосовувати різні методи, такі як (але не обмежуючись тільки ними) (а) трансплантація 55
нелюдських (наприклад, з антитіла-донора) CDR у людську (наприклад, антитіло-реципієнт) каркасну ділянку й константні ділянки, що зберігають або не зберігають залишки каркасної ділянки, що мають вирішальне значення (наприклад, залишки, важливі для збереження гарної антигензв'язувальної афінності або функцій антитіла), (б) трансплантація тільки нелюдських визначальних специфічності ділянок (SDR або a-CDR; залишки мають вирішальне значення для взаємодії антитіло-антиген) у людські каркасні й константні ділянки, або (в) трансплантація 60
повних нелюдських варіабельних доменів, але їх "маскування" сегментом, що нагадує людський, шляхом заміни поверхневих залишків. Огляд гуманізованих антитіл і методів їх

одержання див., наприклад, в Almagro i Fransson, *Front Biosci* 13, 12008, стор. 1619-1633, і вони описані також, наприклад, в Riechmann i ін., *Nature* 332, 1988, стор. 323-329; Queen i ін., *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 1989, стор. 10029-10033; US, №№ 5821337, 7527791, 6982321 і 7087409; Jones i ін., *Nature* 321, 1986, стор. 522-525; Morrison i ін., *Proc Natl Acad Sci* 81, 1984, стор. 6851-6855; Morrison i Oi, *Adv Immunol* 44, 1988, стор. 65-92; Verhoeyen i ін., *Science* 239, 1988, стор. 1534-1536; Padlan, *Molec Immun* 31(3), 1994, стор. 169-217; Kashmiri i ін., *Methods* 36, 2005, стор. 25-34) (опис трансплантації SDR (α-CDR)); Padlan, *Mol Immunol* 28, 1991, стор. 489-498 (опис методу зміни поверхні ("повторне покриття")); Dall'acqua i ін., *Methods* 36, 2005, стор. 43-60 (опис "перестановки FR") і Osbourn i ін., *Methods* 36, 2005, стор. 61-68, і Klimka i ін., *Br J Cancer* 83, 2000, стор. 252-260 (опис підходу на основі «цілеспрямованої селекції» для перестановки FR). Людські антитіла й людські варіабельні ділянки можна одержувати за допомогою різних методик, відомих у даній галузі. Людські антитіла описані в цілому, в van Dijk i van de Winkel, *Curr Opin Pharmacol* 5, 2001, стор. 368-374 і Lonberg, *Curr Opin Immunol* 20, 2008, стор. 450-459. Людські варіабельні ділянки можуть утворювати частину людських моноклональних антитіл або можуть бути отримані з них за допомогою методу гібридом (див., наприклад, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, вид-во Marcel Dekker, Inc., New York, 1987, стор. 51-63). Людські антитіла й людські варіабельні ділянки можна одержувати також шляхом введення імуногена трансгенній тварині, яка модифікована таким чином, що може продукувати інтактні людські антитіла або інтактні антитіла з людськими варіабельними ділянками у відповідь на контрольне зараження антигеном (див., наприклад, Lonberg, *Nat Biotech* 23, 2005, стор. 1117-1125). Людські антитіла й людські варіабельні ділянки можна створювати також шляхом виділення послідовностей варіабельних ділянок Fv-клона, відібраних з людських фагових дисплейних бібліотек (див., наприклад, Hoogenboom i ін. в: *Methods in Molecular Biology*, під ред. O'Brien i ін., вид-во Human Press, Totowa, NJ, 178, 2001, стор. 1-37); і McCafferty i ін., *Nature* 348, 552-554; Clackson i ін., *Nature* 352, 1991, стор. 624-628). Фаг, як правило, експонує фрагменти антитіл або у вигляді одноланцюгових Fv- (scFv)-фрагментів, або у вигляді Fab-фрагментів.

У деяких варіантах здійснення винаходу антигензв'язувальні фрагменти, придатні для застосування згідно із даним винаходом, створюють так, щоб вони мали підвищену афінність зв'язування, наприклад, за допомогою методів, описаних у публікації заявки на патент США № 2004/0132066, повний зміст якої включено в даний опис як посилання. Здатність, біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході, зв'язуватися зі специфічною антигенною детермінантою можна оцінювати кількісно або за допомогою твердофазного ферментного аналізу (ELISA), або іншими методиками, відомими фахівцям в даній галузі, наприклад, за допомогою методу поверхневого плазмонного резонансу (здійснюючи аналіз із використанням системи BIACORE T100) (Liljeblad i ін., *Glyco J* 17, 2000, стор. 323-329), і традиційних аналізів зв'язування (Heeley, *Endocr Res* 28, 2002, стор. 217-229). Аналізи в умовах конкуренції можна застосовувати для ідентифікації антитіла, фрагмента антитіла, антигензв'язувального домену або варіабельного домену, що конкурує з референс-антитілом за зв'язування з конкретним антигеном, наприклад, антитіла, яке конкурує з антитілом V9 за зв'язування з CD3. У деяких варіантах здійснення винаходу вказане конкуруюче антитіло зв'язується з тим же епітопом (наприклад, лінійним або конформаційним епітопом), з яким зв'язується референс-антитіло. Докладні наведені як приклади методи картування епітопу, з яким зв'язується антитіло, представлені в 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 у розчині, що містить перше мічене антитіло, яке зв'язується з антигеном (наприклад, антитіло V9), і другим неміченим антитілом, яке підлягає тестуванню відносно його здатності конкурувати з першим антитілом за зв'язування з антигеном. Друге антитіло може бути присутнє у супернатанті гібридами. Як контроль іммобілізований антиген інкубують у розчині, що містить перше мічене антитіло, але не містить друге 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, суттєво знижене в тестованому зразку в порівнянні з контрольним зразком, то це свідчить про те, що друге антитіло конкурує з першим антитілом за зв'язування з антигеном (див. Harlow i Lane. *Antibodies: A Laboratory Manual*, вид-во Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, гл. 14, 1988).

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, отримані за допомогою представлених у даному описі методів, можна очищати з використанням відомих у даній галузі методик, таких як рідинна хроматографія високого дозволу, іонообмінна хроматографія, гель-

електрофорез, афінна хроматографія, гель-фільтрація й т.п. Фактичні умови, застосовувані для очищення конкретного білка, залежать, зокрема, від таких факторів, як чистий заряд, гідрофобність, гідрофільність і т.д., і вони повинні бути очевидні фахівцям в даній галузі. Для очищення антитіла за допомогою афінної хроматографії можна використовувати ліганд, рецептор або антиген, з яким зв'язується, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину. Наприклад, для очищення за допомогою афінної хроматографії біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході, можна використовувати матрикс із білком А або білком G. Наприклад, послідовне застосування афінної хроматографії на білку А або G і гель-фільтрації можна застосовувати для виділення, біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, практично згідно з методом, описаним у розділі "Приклади". Чистоту біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, можна визначати за допомогою будь-якого із широкої різноманітності добре відомих аналітичних методів, включаючи гель-електрофорез, рідинну хроматографію високого тиску й т.п. Наприклад, встановлено, що злиті білки, що містять важкі ланцюги, які експресували згідно описаним у розділі "Приклади" методам, є інтактними й правильно зібраними, що продемонстроване за допомогою ДСН-ПААГ в умовах, що відновлюють (див., наприклад, фіг. 2). Розділяли три смуги, що відповідають приблизно Mr 25000, Mr 50000 і Mr 75000, які відповідали передбаченим молекулярним масам легкого ланцюга, важкого ланцюга й злитого білкового важкого ланцюг/легкий ланцюг біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітини.

Аналізи

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, представлені в даному описі, можна ідентифікувати, піддавати скринінгу або характеризувати їх фізичні/хімічні властивості та/або види біологічної активності за допомогою різних аналізів, відомих у даній галузі.

Аналізи афінності

Афінність біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, до Fc-рецептора або антигену-мішені можна визначати за допомогою методів, викладених у розділі "Приклади", за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR), використовуючи стандартну інструментальну базу, наприклад, обладнання BIACore (фірма GE Healthcare), і рецептори або білки-мішені, які можна одержувати за допомогою рекомбінантної експресії. Альтернативно до цього, зв'язування біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що 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 проточної цитометрії (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 обладнання BIACORE® T100 (фірма GE Healthcare) при 25°C.

Для аналізу взаємодії між Fc-ділянкою й 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 10 мМ ацетатом натрію, pH 5,0 до концентрації 40 мкг/мл перед ін'єкцією зі швидкістю потоку 5 мкл/хв для досягнення рівня іммобілізації, що відповідає приблизно 6500 одиниць відповіді (RU) зв'язаного білка. Після ін'єкції ліганду ін'єкували 1М етаноламін для блокади непрореагованих груп. Потім здійснювали "захоплення" Fc-рецептора протягом 60 с у концентрації 4 або 10 нМ. Для кінетичних вимірювань ін'єкували чотириразові серійні розведення біспецифічної конструкції (діапазон від 500 до 4000 нМ) у буфері HBS-EP+ (фірма GE Healthcare, 10 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 3 мМ EDTA, 0,05 % сурфактанта P20, pH 7,4) при 25°C зі швидкістю потоку 30 мкл/хв протягом 120 с.

Для визначення афінності до антигену-мішені біспецифічні конструкції "захоплювали" за допомогою специфічного у відношенні 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 у концентрації 300 нМ. Антигени-мішені пропускали через проточні гнізда протягом 180 с у діапазоні концентрацій від 250 до 1000 нМ 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 (K_D) за допомогою апроксимації нелінійної кривої ізотерми зв'язування Ленгмюра. Швидкість реакції асоціації (k_{on}) і реакції дисоціації (k_{off}) розраховували з використанням простої моделі зв'язування Ленгмюра 1:1 (програма BIACORE® T100 Evaluation Software, версія 1.1.1) шляхом одночасної апроксимації сенсограм асоціації й дисоціації. Константу рівноваги реакції дисоціації (K_D) розраховували як співвідношення k_{off}/k_{on} (див., наприклад, Chen і ін., J Mol Biol 293, 1999, стор. 865-881).

Аналізи активності

Біологічну активність біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході, можна визначати за допомогою різних аналізів, описаних у розділі "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 та/або підвищення виживаності.

Композиції, препаративні форми й шляхи введення

Наступним об'єктом винаходу є фармацевтичні композиції, що містять будь-яку з біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, представлених у 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 біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, представлених у даному описі, і фармацевтично прийнятний носій. В іншому варіанті здійснення винаходу фармацевтична композиція містить будь-яку з біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, представлених у даному описі, і принаймні один додатковий терапевтичний засіб, наприклад, вказане нижче.

Крім того, представлений спосіб одержання біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході, у формі, придатної для введення *in vivo*, що полягає в тому, що (а) одержують біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, і (б) поєднують у препаративній формі біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину принаймні з одним фармацевтично прийнятним носієм, де приготовлений препарат біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, придатний для застосування *in vivo*.

Фармацевтичні композиції, запропоновані в даному винаході, містять у терапевтично ефективній кількості одну або декілька біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, яка (і) розчинена (і) або диспергирована (і) у фармацевтично прийнятному носії. Поняття "фармацевтично або фармакологічно прийнятний" стосується молекулярних субстанцій і композицій, які, у цілому, нетоксичні для реципієнтів у застосовуваних дозах і концентраціях, тобто не викликають шкідливі, алергічні або інші небажані реакції при введенні при необхідності тварині, такій, наприклад, як люди. Приготування фармацевтичної композиції, яка містить принаймні одну біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину й необов'язково додаткову діючу речовину, повинно бути очевидно фахівцям у даній галузі у 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 й загальної безпеки й 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. У контексті даного опису "фармацевтично прийнятний носій" включає будь-які й усі розчинники, буфери, дисперсійні середовища, покриття, поверхнево-активні речовини, антиоксиданти, консерванти (наприклад, антибактеріальні агенти, протигрибкові агенти), агенти для додання ізотонічності агенти, що сповільнюють абсорбцію, солі, білки, лікарські засоби, стабілізатори лікарських засобів, полімери, гелі, зв'язувальні речовини, ексципієнти, розпушувачі, замаслювачі, підсолоджувальні речовини, коригенти, барвники й подібні матеріали і їх комбінації, які повинні бути відомі звичайному фахівцеві в даній галузі (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е вид., вид-во Mack Printing Company, 1990, стор. 1289-1329, включений у даний опис як посилання). У 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 залежно від того, чи вводять її у твердій, рідкій або

аерозольній формі, і від того, чи винна вона бути стерильною, як у випадку використання таких шляхів введення, як ін'єкція. Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані в даному винаході (і будь-який додатковий терапевтичний засіб), можна вводити внутрішньовенно, внутрішньошкірно, внутрішньоартеріально, внутрішньочеревинно, усередину ушкодження, усередину черепа, усередину суглоба, усередину передміхурової залози, усередину селезінки, внутрішньоренально, внутрішньоплеврально, внутрішньотрахеально, внутрішньонозально, усередину склоподібного тіла, внутрішньовагінально, внутрішньоректально, усередину пухлини, внутрішньом'язево, внутрішньоочеревинно, підшкірно, підкон'юнктивально, інтравезикулярно, у слизову оболонку, інтраперикардіально, усередину пуповини, інтраокулярно, орально, топікально, 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, у ліпідних композиціях (наприклад, ліпосомах), або за допомогою будь-якого іншого методу або будь-якої комбінації вищевказаних шляхів, відомих звичайному фахівцеві в даній галузі (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е вид., вид-во Mack Printing Company, 1990, включений у даний опис як посилання). Для введення молекул поліпептидів, таких як біспецифічні антигензв'язувальні 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, усередину ушкодження, внутрішньовенної, внутрішньоартеріальної, внутрішньом'язової, підоболонкової або внутрішньоочеревинної ін'єкції. Для ін'єкції, біспецифічні антигензв'язувальні 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 та/або диспергуючі агенти. Альтернативно до цього, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, можуть знаходитися в порошкоподібній формі, призначеної для відновлення перед застосуванням прийнятним наповнювачем, наприклад, стерильною водою, що не містить пірогенів. Стерильні ін'єктовані розчини готують шляхом включення біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, запропонованих у винаході, у необхідній кількості у відповідний розчинник при необхідності в комбінації з різними іншими інгредієнтами, перерахованими нижче. Стерильність можна легко забезпечувати, наприклад, шляхом фільтрації через стерильні фільтруючі мембрани. Як правило, дисперсії одержують шляхом включення різних стерилізованих діючих речовин у стерильний наповнювач, який містить основне дисперсійне середовище та/або інші інгредієнти. У випадку стерильних порошоків для одержання стерильних ін'єктованих розчинів, суспензій або емульсій переважними методами одержання є вакуумне сушіння або сушіння виморожуванням, які дозволяють одержувати порошок діючої речовини в комбінації з будь-яким додатковим необхідним інгредієнтом з попередньо стерилізованою фільтрацією рідкого середовища. При необхідності рідке середовище перед здійсненням ін'єкції повинне бути відповідним чином забуферене й рідкому розріджувачу спочатку додана ізотонічність за допомогою достатньої кількості соляного розчину або глюкози. Композиція повинні бути стабільною з умовах приготування й зберігання й захищена від забруднюючої дії мікроорганізмів, таких як бактерії й 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 й метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламонійхлорид; гексаметонійхлорид; бензалконійхлорид; бензетонійхлорид; фенол, бутиловий або бензиловий спирт; алкилпарабени, такі як метил- або пропілпарабен; катехол, резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол і мета-крезол); низькомолекулярні (що 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 й інші вуглеводи, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, такі як ЕДТК; цукри, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворюючі протиіони, такі як натрій; комплекси с металами (наприклад, комплекси Zn-білок); та/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

висококонтентровані 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 масла, такі як кунжутна олія, або синтетичні ефіри жирних кислот, такі як етилолеати або тригліцериди, або ліпосоми.

Діючі речовини можна містити в мікрокапсули, наприклад, отримані за допомогою методів коацервації або міжфазної полімеризації, наприклад у гідроксипропілметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули й полі(метилметакрилатні) мікрокапсули відповідно, у колоїдні системи введення лікарського засобу (наприклад, у ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки й 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 із твердих гідрофобних полімерів, що включають поліпептид, такі матриці представляють собою вироби певної форми, наприклад, плівки або мікрокапсули. У конкретному варіанті здійснення винаходу для досягнення пролонгованої абсорбції ін'єксованої композиції можна застосовувати в композиції агенти, що сповільнюють абсорбцію, такі, наприклад, як моностеарат алюмінію, желатин або їх комбінації.

Крім описаних вище композицій, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, можна готувати також у вигляді препарату у формі депо. Вказані препаративні форми тривалої дії можна застосовувати шляхом імплантації (наприклад, підшкірної або внутрішньом'язової) або внутрішньом'язової ін'єкції. Так, наприклад, біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, можна включати в препаративні форми в комбінації із прийнятними полімерними або гідрофобними матеріалами (наприклад, у вигляді емульсії в прийнятному маслі) або іонообмінними смолами, або у вигляді помірковано розчинних похідних, наприклад, помірно розчинної солі.

Фармацевтичні композиції, що містять біспецифічні антигензв'язувальні 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, ексципієнтів або допоміжних речовин, які полегшують обробку білків, з одержанням препаратів, які можна застосовувати у фармацевтичних цілях. Відповідна форма залежить від вибраного шляху введення.

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини можна включати в композиції у вигляді вільної кислоти або вільної основи, у нейтральній формі або у формі солі. Фармацевтично прийнятні солі представляють 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 або мигдалева кислота. Солі, утворені з вільної 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 воді й інших протонних розчинниках у порівнянні з відповідними формами у вигляді вільних основ.

Способи й композиції для терапевтичного застосування

Будь-яку з біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, представлених у даному описі, можна застосовувати в терапевтичних способах. Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна використовувати як імунотерапевтичних агентів, наприклад, при лікуванні різних видів раку.

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

Одним з об'єктів винаходу є біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, призначені для застосування як лікарського засобу. Наступними об'єктами винаходу є біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, призначені для застосування при лікуванні захворювання.

Деякими варіантами здійснення винаходу є біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, призначені для застосування в способі лікування. Одним з варіантів здійснення винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представлена в даному описі, призначена для застосування при лікуванні захворювання в індивідуума, який потребує цього. Деякими варіантами здійснення винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітини, призначена для застосування в способі лікування індивідуума, який має захворювання, що полягає в тому, що вводять індивідуумові в терапевтично ефективній кількості біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину. У деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою проліферативне порушення. У конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання представляє собою рак. У деяких варіантах здійснення винаходу спосіб полягає також у тому, що вводять індивідуумові в терапевтично ефективній кількості принаймні один додатковий терапевтичний засіб, наприклад, протираковий засіб, якщо захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою рак. Додатковими варіантами здійснення винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, представлена в даному описі, призначена для застосування з метою індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини. Деякими варіантами здійснення винаходу є біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, призначена для застосування в способі індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини, в індивідуума, що полягає в тому, що вводять індивідуумові в ефективній кількості біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину для індукції лізису клітини-мішені. "Індивідуум" у контексті будь-якого із вказаних вище варіантів здійснення винаходу представляє собою ссавця, переважно людину.

Наступним об'єктом винаходу є застосування біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході, для виробництва або приготування лікарського засобу. В одному з варіантів здійснення винаходу лікарський засіб призначений для лікування захворювання в індивідуума, який цього потребує. В одному з варіантів здійснення винаходу лікарський засіб призначений для застосування в способі лікування захворювання, що полягає в тому, що вводять індивідуумові, який має захворювання, у терапевтично ефективній кількості лікарський засіб. У деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою проліферативне порушення. У конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання представляє собою рак. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб полягає також у тому, що вводять індивідуумові в терапевтично ефективній кількості принаймні один додатковий терапевтичний засіб, наприклад, протираковий засіб, якщо захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою рак. В іншому варіанті здійснення винаходу лікарський засіб призначений для індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини. У наступному варіанті здійснення винаходу лікарський засіб призначений для застосування в способі індукції лізису клітини-мішені, зокрема пухлинної клітини, в індивідуума, що полягає в тому, що вводять індивідуумові в ефективній кількості лікарський засіб для індукції лізису клітини-мішені. "Індивідуум" у контексті будь-якого із вказаних вище варіантів здійснення винаходу представляє собою ссавця, переважно людину.

Наступним об'єктом винаходу є спосіб лікування захворювання. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб полягає в тому, що вводять індивідуумові, що має вказане захворювання, у терапевтично ефективній кількості біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході. В одному з варіантів здійснення винаходу вказаному індивідуумові вводять композицію, яка містить біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, у фармацевтично прийнятній формі. У деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою проліферативне порушення. У конкретному варіанті здійснення винаходу захворювання представляє собою рак. У деяких варіантах здійснення винаходу спосіб полягає також у тому, що вводять індивідуумові в терапевтично ефективній кількості принаймні один додатковий терапевтичний засіб, наприклад, протираковий засіб, якщо захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою рак. "Індивідуум" у контексті будь-якого із вказаних вище варіантів здійснення винаходу може представляти собою ссавця.

Наступним об'єктом винаходу є спосіб індукції лізису клітини-мішені, зокрема, пухлинної клітини. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб полягає в тому, що приводять у контакт клітину-мішень із біспецифічною антигензв'язувальною молекулою, що активує Т-клітину, запропонованою у винаході, у присутності Т-клітини, зокрема, цитотоксичної Т-клітини. Іншим об'єктом винаходу є спосіб індукції лізису клітини-мішені, зокрема, пухлинної клітини. В одному із вказаних варіантів здійснення винаходу спосіб полягає в тому, що вводять індивідуумові в ефективній кількості біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-

клітини, для індукції лізису клітини-мішені. В одному з варіантів здійснення винаходу "індивідуум" представляє собою людину.

У деяких варіантах здійснення винаходу захворювання, що підлягає лікуванню, представляє собою проліферативне порушення, насамперед рак. Прикладами раку є (але не обмежуючись тільки ними) рак сечового міхура, рак головного мозку, рак голови й 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 шлунку, рак передміхурової залози, рак крові, рак шкіри, плоскоклітинна карцинома, рак кістки й рак нирки. Інші порушення клітинної проліферації, які можна лікувати з використанням біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, 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 (надниркова залоза, паращитовидна, гіпофіз, яєчка, яєчник, тимус, щитовидна), ока, голові й шиї, нервовій системі (центральної й периферичній), лімфатичній системі, тазовій ділянці, шкірі, м'якій тканині, селезінці, грудному відділі й сечостатевої системі. Також під обсяг винаходу підпадають передракові стани або ушкодження й метастази раку. У деяких варіантах здійснення винаходу рак вибирають із групи, що включає печінковоклітинний рак, рак шкіри, рак легені, колоректальний рак, рак молочної залози, рак головного мозку, рак голови й шиї. Фахівцеві в даній галузі повинно бути очевидно, що в багатьох випадках біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину не може забезпечувати зцілення, а може тільки виявляти частковий сприятливий вплив. У деяких варіантах здійснення винаходу фізіологічні зміни, що характеризуються деякою сприятливою дією, розглядаються також як терапевтично цінні. Таким чином, у деяких варіантах здійснення винаходу кількість біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, яка забезпечує фізіологічну зміну, розглядається як "ефективна кількість" або "терапевтично ефективна кількість". Суб'єкт, пацієнт або індивідуум, що потребує лікування, являє собою, як правило, ссавця, більш конкретно людину.

У деяких варіантах здійснення винаходу біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, вводять в ефективній кількості в клітину. В інших варіантах здійснення винаходу біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, вводять у терапевтично ефективній кількості індивідуумові для лікування хвороби.

Для попередження або лікування захворювання відповідна доза біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході (при її застосуванні індивідуально або в комбінації з одним або декількома іншими додатковими терапевтичними засобами), повинна залежати від типу захворювання, що підлягає лікуванню, шляху введення, ваги тіла пацієнта, типу біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, серйозності й перебігу захворювання, від того, чи вводять біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітини, в превентивних або терапевтичних цілях, що передують або здійснюються одночасно з терапевтичними втручаннями, історії хвороби пацієнта й відповіді на біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, й призначень лікаря. Практикуючий фахівець, відповідальний за введення, у кожному разі, повинен визначати концентрацію діючої (их) речовини(н) у композиції й відповідну(і) дозу(и) для індивідуального пацієнта. Різні схеми введення доз включають (але не обмежуючись тільки ними) однократне введення або декілька введення у різні моменти часу, болюсне введення й пульсуючу інфузію.

Біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, можна вводити пацієнтові у вигляді однієї обробки або серій обробок. Залежно від типу й серйозності захворювання можлива початкова доза біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, для введення пацієнтові, наприклад, з використанням одного або декількох індивідуальних введення або за допомогою безперервної інфузії, може становити приблизно від 1 мкг/кг до 15 мг/кг (наприклад, 0,1-10 мг/кг). Типова добова доза може становити від приблизно 1 мкг/кг до 100 мг/кг або більш залежно від відзначених вище факторів. Для повторних введення протягом декількох днів або більш тривалого періоду залежно від стану, лікування, як правило, повинне тривати до досягнення необхідного пригнічення наявних симптомів захворювання. Як приклад, доза біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, може становити від приблизно 0,005 до приблизно 10 мг/кг. В іншому прикладі (але не обмежуючись тільки вказаним) доза на одне введення може становити 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 вказаному 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. з урахуванням вказаних вище рівнів доз. Так, пацієнтові можна вводити одну або декілька доз, що становлять 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 біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину). Можна вводити початкову більш високу ударну дозу, після якої застосовувати одну або декілька більш низьких доз. Однак можна використовувати інші схеми введення доз. Успіх такої терапії легко оцінювати за допомогою загальноприйнятих методик і аналізів.

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, як правило, слід застосовувати в кількості, ефективній для досягнення поставленої мети. При застосуванні для лікування або попередження хворобливого стану біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, або їх фармацевтичні композиції, вводять або застосовують у терапевтично ефективній кількості. Визначення терапевтично ефективної кількості знаходиться в компетенції фахівців у даній галузі, насамперед у контексті представленого докладного 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 у форму для вивчення на тваринних моделях для досягнення концентрації в кровотоці, що знаходиться в діапазоні, 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 фахівець у даній галузі легко може оптимізувати застосування на людях на основі даних, отриманих на тварин.

Рівень доз і інтервал можна регулювати індивідуально для одержання рівнів у плазмі біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, які є достатніми для підтримки терапевтичної дії. Звичайні дози, призначені для введення пацієнтові шляхом ін'єкції, становлять від приблизно 0,1 до 50 мг/кг/день, як правило, від приблизно 0,5 до 1 мг/кг/день. Для досягнення терапевтично ефективних рівнів у 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 біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, може не відповідати концентрації в плазмі. Фахівець у даній галузі може оптимізувати терапевтично ефективні місцеві дози без надмірних експериментів.

Застосування в терапевтично ефективній дозі біспецифічних антигензв'язувальних молекул, що активують Т-клітини, представлених у даному описі, повинно, як правило, забезпечувати терапевтичну користь, не викликаючи істотної токсичності. Токсичність і терапевтичну ефективність біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, можна визначати за допомогою стандартних фармацевтичних процедур на культурах клітин або експериментальних тварин. Аналізи на клітинних культурах або досліді 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 токсичні й терапевтичні дії, позначають як терапевтичний індекс, який можна виражати у вигляді співвідношення LD_{50}/ED_{50} . Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, що мають високі терапевтичні індекси, є переважними. В одному з варіантів здійснення винаходу, біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, запропонована в даному винаході, характеризується високим терапевтичним індексом. Дані, отримані в аналізах з використанням клітинних культур і в досліді на тварин, можна застосовувати для визначення діапазону доз, які можна застосовувати на людях. Доза лежить переважно в діапазоні концентрацій у кровотоці, які включають ED_{50} , що мають невисокою токсичність або що не мають токсичності. Доза може змінюватися залежно від різних факторів, наприклад, від застосовуваної лікарської форми, застосовуваного шляху введення, стану індивідуума й т.п. Точну препаративну форму, шлях введення й дозу може вибирати індивідуально лікар залежно від стану пацієнта (див., наприклад, Fingl і ін. в: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, гл. 1, 1975, с. 1, публікація повністю включена в даний опис як посилання).

Лікареві, який лікує пацієнтів, яким вводять біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що

активують Т-клітини, запропоновані у винаході, повинно бути очевидно, як і коли закінчувати, переривати або регулювати введення через токсичність, дисфункції органів і т.п. І, навпаки, лікареві повинно бути очевидно, як регулювати лікування у бік застосування більш високих доз, якщо клінічна відповідь є неадекватною (запобігаючи токсичності). Величина дози, що вводиться, при лікуванні порушення, що представляє інтерес, повинна змінюватися залежно від серйозності стану, що підлягає лікуванню, шляху введення й т.п. Серйозність стану можна, наприклад, оцінювати серед іншого за допомогою стандартних прогностичних методів оцінки. Крім того, доза й передбачувана частота введення дози повинні також варіюватися залежно від віку, ваги тіла й відповіді індивідуального пацієнта.

Інші засоби й варіанти лікування

Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, при лікуванні можна вводити в комбінації з одним або декількома іншими засобами. Наприклад біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході, можна вводити спільно принаймні з одним додатковим терапевтичним засобом. Поняття "терапевтичний засіб" включає будь-який засіб, який вводять для лікування симптомів або захворювання в індивідуума, який потребує такого лікування. Вказаний додатковий терапевтичний засіб може представляти собою будь-яку діючу речовину, яку можна застосовувати при конкретному показі, що підлягає лікуванню, переважно з додатковими видами активності, які не виявляють негативну дію один на одного. У деяких варіантах здійснення винаходу додатковий терапевтичний засіб представляє собою імуномодулятор, цитостатичний засіб, інгібітор клітинної адгезії, цитотоксичний засіб, активатор клітинного апоптозу або засіб, що підвищує чутливість клітин до індукторів апоптозу. У конкретному варіанті здійснення винаходу додатковий терапевтичний засіб представляє собою протираковий засіб, наприклад, агент, що руйнує мікротрубочки, антиметаболіт, інгібітор топоізомерази, інтеркалятор ДНК, алкілюючий агент, засіб гормональної терапії, інгібітор кіназ, антагоніст рецептора, активатор апоптозу пухлинних клітин або антиангіогенний засіб.

Вказані інші засоби можуть бути присутні у комбінації в кількостях, ефективних для вказаних цілей. Ефективна кількість вказаних інших засобів залежить від кількості застосовуваної біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, типу порушення або лікування, і інших вказаних вище факторів. Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, як правило, застосовують у такі ж дозах і з використанням вказаних у даному описі шляхів введення, або в дозах, що становлять приблизно від 1 до 99 % від вказаних у даному описі доз, або в будь-якій дозі й з використанням будь-якого шляху введення, які згідно емпіричним/клінічним даним розглядаються як прийнятні.

Відзначені вище комбіновані терапії передбачають спільне введення (коли два або більша кількість терапевтичних засобів включають у ту саму або в окремі композиції) і роздільне введення, у цьому випадку введення біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, запропонованої у винаході, можна здійснювати до, одночасно та/або після введення додаткового терапевтичного засобу та/або ад'юванта. Біспецифічні антигензв'язувальні молекули, що активують Т-клітини, запропоновані у винаході, можна застосовувати також у комбінації із променевою терапією.

Наступним об'єктом винаходу є біспецифічне антитіло, що містить а) перший антигензв'язувальний сайт, який містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), що має SEQ ID NO: 274, і варіабельний домен легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31; і б) другий антигензв'язувальний сайт, який містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), що має SEQ ID NO: 36, і варіабельний домен легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31, призначене для застосування в комбінації з антитілом до PD-L1 або FAP-4-1BBL. В одному з варіантів здійснення винаходу біспецифічне антитіло додатково містить третій антигензв'язувальний сайт, який містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), що має SEQ ID NO: 274, і варіабельний домен легкого ланцюга, що має SEQ ID NO: 31.

Вироби

Іншим об'єктом винаходу є виріб, який містить продукти, застосовувані для лікування, попередження та/або діагностування вказаних вище порушень. Виріб представляє собою контейнер і етикетку або листівку-вкладиш в упаковці, яка розміщена на контейнері або додаються до нього. Прийнятними контейнерами є, наприклад банки, пухирці, 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 комбінації з іншою композицією є ефективною для лікування, попередження та/або діагностування стану, і може мати стерильний порт доступу (наприклад, контейнер може представляти собою пакет для внутрішньовенного розчину або пухирець, постачаний пробкою, яку можна прокалювати за

допомогою голки для підшкірних ін'єкцій). Принаймні одна діюча речовина в композиції являє собою біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході. На етикетці або листівці-вкладиші в упаковці вказано, що композицію застосовують для лікування вибраного стану. Крім того, виріб може включати (а) перший контейнер з композицією, що знаходиться в ньому, де композиція містить біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину, запропоновану у винаході; і (б) другий контейнер з композицією, що знаходиться в ньому, де композиція містить додатковий цитотоксичний або інший терапевтичний засіб. Згідно із цим варіантом здійснення винаходу виріб може містити листівку-вкладиш в упаковці, 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 (BSBI), забуферений фосфатом фізіологічний розчин, розчин Рінгера й розчин декстрази. Крім того, він може включати інші матеріали, необхідні з комерційної точки зору й з погляду споживача, зокрема, інші буфери, розріджувачі, фільтри, голки й шприци.

Приклади

Нижче представлені приклади способів і композицій, запропонованих у винаході. Як повинно бути очевидно, можна втілювати на практиці різні інші варіанти здійснення винаходу в цілому з урахуванням представленого вище опису винаходу.

Загальні методи

Методи рекомбінантної ДНК

Для маніпуляцій із ДНК використовували стандартні методи, описані в Sambrook J. і ін., *Molecular cloning: A laboratory manual*; вид-во Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Реагенти для молекулярної біології застосовували згідно з інструкціями виробників. Загальну інформацію, що стосується нуклеотидних послідовностей легких і важких ланцюгів людських імуноглобулінів, див. в: Kabat E.A. і ін., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5-е вид., вид-во NIH, публікація N 91-3242, 1991.

Секвеновані ДНК

Послідовності ДНК визначали шляхом стандартного секвенування двох ланцюгів на фірмі Synergebe (Шпірен).

Синтез генів

Необхідні сегменти генів або створювали за допомогою ПЛР із використанням відповідних матриць, або синтезували на фірмі Geneart AG (Регенсбург, Німеччина) із синтетичних олігонуклеотидів і ПЛР-продуктів за допомогою автоматичного синтезу генів. У тих випадках, коли точна генна послідовність не була доступна, створювали олігонуклеотидні праймери на основі послідовностей найближчих гомологів і гени виділяли за допомогою ЗТ-ПЛР із РНК, отриманої з відповідної тканини. Сегменти генів, фланковані одиничними сайтами, що розпізнаються рестрикційними ендонуклеазами, клонували в стандартних клонуючих/секвенуючих векторах. Плазмідну ДНК очищали із трансформованих бактерій і визначали концентрацію за допомогою УФ-спектроскопії. Послідовність ДНК субклонуваних фрагментів генів підтверджували ДНК-секвенуванням. Створювали сегменти генів з необхідними сайтами рестрикції, що дозволяють субклонувати їх у відповідних експресійних векторах. Усі конструкції створювали з 5'-кінцевою послідовністю ДНК, що кодує лідерний пептид, який направляє секрецію білків в еукаріотичних клітинах.

Виділення первинних людських пан-Т-клітин з PBMC

Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих з місцевих банків крові або із свіжої крові здорових донорів. У цілому, метод полягав у наступному: кров розводили стерильним 3ФР і обережно нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, H8889). Після центрифугування протягом 30 хв при 450 × g при кімнатній температурі (відключене гальмівне обладнання), частину плазми, що знаходиться над інтерфазою, що містить PBMC, відкидали. PBMC переносили в нові 50-мілілітрові фальконовські пробірки й пробірки заповнювали 3ФР до повного об'єму 50 мл. Суміш центрифугували при кімнатній температурі протягом 10 хв при 400 × g (включене гальмівне обладнання). Супернатант відкидали й дебрис PBMC відмивали двічі стерильним 3ФР (стадії центрифугування при 4°C протягом 10 хв при 350 × g). Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції PBMC (обладнання ViCell) і зберігали в середовищі RPMI 1640, що містить 10 % FCS і 1 % L-аланіл-L-глутаміну (фірма Biochrom, K0302) при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі аж до початку аналізу.

Для одержання фракції, збагаченої Т-клітинами, з PBMC, використовували набір для

виділення пан-Т-клітин (Pan T Cell Isolation Kit II) (фірма Miltenyi Biotec, № 130-091-156) згідно з інструкціями виробника. У цілому, метод полягав у наступному: клітинний дебріс розводили, використовуючи 40 мкл холодного буфера на 10 мільйонів клітин (ЗФР із 0,5 % БСА, 2мМ ЕДТА, простерилізований фільтрацією), і інкубували, використовуючи 10 мкл коктейлю біотин-антитіло на 10 мільйонів клітин, протягом 10 хв при 4°C. Додавали 30 мкл холодного буфера й 20 мкл магнітних гранул з антитілом до біотину на 10 мільйонів клітин і суміш інкубували протягом ще 15 хв при 4°C. Клітини промивали, додаючи буфер в об'ємі, що перевищує в 10-20 разів об'єм, що був, і потім здійснювали стадію центрифугування при 300 × g протягом 10 хв. Аж до 100 мільйонів клітин ресуспендували в 500 мкл буфера. Магнітну сепарацію немічених людських пан-Т-клітин здійснювали за допомогою LS-колонок (фірма Miltenyi Biotec, №130-042-401) згідно з інструкціями виробника. Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції Т-клітин (обладнання ViCell) і зберігали їх у середовищі AIM-V при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі аж до початку аналізу (не більше 24 год.).

Виділення первинних людських наївних Т-клітин з PBMC

Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) виділяли шляхом центрифугування в градієнті густини Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих з місцевих банків крові або зі свіжої крові здорових донорів. Для одержання фракції, збагаченої Т-клітинами з PBMC, використовували набір для виділення наївних CD8⁺-Т-клітин (Naive CD8⁺T cell isolation Kit) фірми Miltenyi Biotec (№ 130-093-244), згідно з інструкціями виробника, але, пропускаючи останню стадію виділення CD8⁺-Т-клітин (див. також опис виділення первинних людських пан-Т-клітин).

Виділення мишиних пан-Т-клітин зі спленоцитів

Вилучали селезінки з мишей C57BL/6, переносили їх у С-пробірку GentleMACS (фірма Miltenyi Biotec, № 130-093-237), що містить MACS-буфер (ЗФР + 0,5 % БСА + 2 мМ ЕДТА), і розщеплювали за допомогою обладнання для дисоціації тканин GentleMACS з одержанням суспензії одиничних клітин згідно з інструкціями виробника. Клітинну суспензію пропускали через фільтр попереднього очищення для видалення недисоційованих частин тканини. Після центрифугування при 400 × g протягом 4 хв при 4°C додавали буфер для лізису ACK для лізуювання еритроцитів (інкубація протягом 5 хв при кімнатній температурі). Клітини, що залишилися, двічі промивали MACS-буфером, підраховували й застосовували для виділення мишиних пан-Т-клітин. Негативну (магнітну) селекцію здійснювали, використовуючи набір для виділення пан-Т-клітин фірми Miltenyi Biotec (№130-090-861) згідно з інструкціями виробника. Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції Т-клітин (обладнання ViCell) і відразу застосовували для додаткових аналізів.

Виділення первинних PBMC мавп циномоглус із гепаринізованої крові

Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини зі свіжої крові здорових мавп циномоглус у такий спосіб: гепаринізовану кров розводили в співвідношенні 1:3 стерильним ЗФР і середовище Lymphoprep (фірма Axon Lab, №1114545) розводили до 90 % стерильним ЗФР. Два об'єми розведеної крові нашаровували на один об'єм розведеного градієнта густини й фракцію PBMC розділяли шляхом центрифугування протягом 30 хв при 520 × g без гальмування при кімнатній температурі. Смугу, що відповідає PBMC, переносили у свіжу 50-мілілітрову фальконівську пробірку й промивали стерильним ЗФР шляхом центрифугування протягом 10 хв при 400 × g при 4°C. Здійснювали одну стадію низькошвидкісного центрифугування для видалення тромбоцитів (15 хв при 150 × g, 4°C) і здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції PBMC (обладнання ViCell) і відразу застосовували для додаткових аналізів.

Приклад 1

Очищення злиттів біотинілований фолатний рецептор-Fc

Для створення нових антитіл до людського FolR1 конструювали вказані нижче антигени й "інструменти" для скринінгу у вигляді одновалентних злитих білків, що містять Fc (позаклітинний домен антигену, зчеплений із шарнірною ділянкою Fc з "виступом", який спільно експресували з молекулою, що містить Fc з "западиною"). Гени антигену синтезували (фірма Geneart, Регенсбург, Німеччина) на основі послідовностей, отриманих з GenBank або SwissProt, і вбудовували в експресійні вектори для створення злитих білків, що містять Fc з "виступом", з С-кінцевою Avi-міткою для біотинілування in vivo або in vitro. Біотинілування in vivo здійснювали шляхом спільної експресії бактеріального гена birA, що кодує бактеріальну біотинлігазу, у процесі одержання. Експресію всіх генів здійснювали під контролем химерного промотору MPSV на плазміді, що містить елемент oriP для підтримки стабільності плазмід в клітинних лініях, що містять EBNA.

Для одержання біотинілованих мономерних злитих молекул антиген/Fc, клітини HEK293

EBNA, що ростуть у суспензії на експонентній фазі росту спільно трансфектували трьома векторами, що кодують два компоненти злитого білка (ланцюги з "виступом" і з "западиною"), а також BirA, фермент, необхідний для реакції біотинілування. Відповідні вектори застосовували в співвідношенні 9,5:9,5:1 ("антиген ECD-Fc з "виступом"-avi-мітка": «Fc з "западиною": «BirA").

Для одержання білка в струшуваних колбах місткістю 500 мл висівали 400 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції. Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 g і супернатант заміняли попередньо нагрітим середовищем CD CHO. Експресійний вектори ресуспендували в 20 мл середовища CD CHO, що містить 200 мкг векторної ДНК. Після додавання 540 мкл поліетиленіміну (PEI) розчин перемішували протягом 15 с і інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/PEI, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37°C в інкубаторі в атмосфері, що містить 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через один день після трансфекції до культури додавали 1 мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1 (фірма Lonza). Середовище для виробництва доповнювали також 100 мкМ біотином. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали шляхом осадження центрифугуванням протягом 15 хв при 210 × g. Розчин стерилізували фільтрацією (фільтр із розміром пор 0,22 мкМ), доповнювали азидом натрію до кінцевої концентрації 0,01 % (мас./об.), витримували при 4°C.

Секретовані білки очищали із супернатантів клітинних культур за допомогою афінної хроматографії на білку А з наступною гель-фільтрацією. Для здійснення афінної хроматографії супернатант вносили на колонку HiTrap ProteinA HP (CV=5 мл, фірма GE Healthcare), урівноважену 40 мл буфера, що містить 20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, pH 7,5. Незв'язаний білок видаляли промиванням, використовуючи рівний принаймні 10 об'ємам колонки об'єм буфера, що містить 20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, pH 7,5. Зв'язаний білок елюювали, застосовуючи лінійний pH-градієнт, який створювали, використовуючи рівний 20 об'ємам колонки об'єм буфера, що містить 20 мМ цитрат натрію, 100 мМ хлорид натрію, 100 мМ гліцин, pH 3,0. Потім колонкові промивали, використовуючи рівний 10 об'ємам колонки об'єм буфера, що містить 20 мМ цитрат натрію, 100 мМ хлорид натрію, 100 мМ гліцин, pH 3,0.

Величину pH зібраних фракцій регулювали, додаючи 1/10 (об./об.) 0,5М фосфат кальцію, pH 8,0. Білок концентрували й фільтрували перед внесенням на колонку HiLoad Супердекс 200 (фірма GE Healthcare), урівноважену буфером, що містить 20 мМ гістидин, 140 мМ хлорид натрію, pH 6,0.

Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу FolR1-Fc-злиття аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності DCH (KE-DCH) з відновником і без нього (система Caliper LabChip GXII, фірма Perkin Elmer) згідно з інструкціями виробника. Вміст агрегатів у зразках білків аналізували за допомогою аналітичної колонки для гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноваженої в рухомому буфері, що містить 25 мМ K₂HPO₄, 125 мМ NaCl, 200 мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN₃, pH 6,7, при 25°C.

Очищені злиті білки антиген-Fc аналізували за допомогою методу поверхневого плазмонного резонансу з використанням антитіл, що надходять у продаж, для підтвердження правильної конформації антигенів і яка зустрічається в природніх умовах (дані не представлені).

Таблиця 1: Антигени, отримані для здійснення виділення, селекції й зворотної селекції антитіл до людського FolR1

Антиген	ECD (AK)	Реєстраційний номер	Послідовність	SEQ ID NO:
людський FolR1	25-234	P15328	RIAWARTELLNVC MNAKHHKEKPGPEDKLHEQCRP WRKNACCSTNTS QEAHKDVS YLRFNWNHCGEMAP ACKRHFIQDTC LYECS PNLGPW IQQVDQSWRKERV L NVPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTS GFNKCAVGAA CQPFHFYFPTVLCNEI WTHSYKVS NYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPN EEEVARFYAAAM	227

Антиген	ECD (AK)	Реєстраційний номер	Послідовність	SEQ ID NO:
людський FolR2	17-230	P14207	TMCSAQDRTDLLNVCMDAKHHKTKPGPEDKLHDQC SPWKKNACCTASTSQELHKDTSRLYNFNWDHCGKM EPACKRHFQDTCLEYECSPNLGPWQQVNSWRKER FLDVPLCKEDCQRWWEDCHTSHTCKSNWHRGWDW TSGVNKCPAGALCRTFESYFPTPAALCEGLWSHSYK VSNYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAAAM HVN	228
людський FolR3	24-243	P41439	SARARTDLLNVCMDAKHHKTKQSPPEDELYGQCSPW KKNACCTASTSQELHKDTSRLYNFNWDHCGKMEPT CKRHFQDSCLEYECSPNLGPWIRQVNSWRKERILN VPLCKEDCERWWEDCRTSYTCKSNWHKGNWNTSG INECPAGALCSTFESYFPTPAALCEGLWSHSFKVSNY SRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVAKFYAAAMNAGA PSRGIIDS	229
мишиний FolR1	25-232	P35846	TRARTELLNVCMDAKHHKEKPGPEDNLHDQCSPWK TNSCCSTNTSQEAHKDISYLYRFNWNHCGTMTSECK RHFQDTCLEYECSPNLGPWQQVDQSWRKERILDVPL CKEDCQQWWEDCQSSFTCKSNWHKGNWSSGHN ECPVGASCHPFTFYFPTSAALCEEIWSHSYKLSNYSR GSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAEAMS	230
FolR1 мавп циномологус	25-234	G7PR14	EAQTRTARARTELLNVCMDAKHHKEKPGPEDKLHEQ CRPWKKNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCGE MAPACKRHFQDTCLEYECSPNLGPWQQVDQSWRKE RVLNVPLCKEDCERWWEDCRTSYCKSNWHKGNW TSGFNKCPVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTYSYKV SNYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAAAMS	231

Таблиця 2: Узагальнення даних про вихід і кінцевий вміст мономерів злиттів FolR-Fc

Антиген	Мономер [%] за результатами аналізу методом ГФ	Вихід
huFolR1	100	30 мг/л
cyFolR1	100	32 мг/л
muFolR1	100	31 мг/л
huFolR2	100	16 мг/л
huFolR3	95	38 мг/л

5 Приклад 2

Створення загального легкого ланцюга, що має специфічність у відношенні CD3ε

Біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, представлені в даному описі, містять принаймні один зв'язувальний CD3 фрагмент. Цей фрагмент можна створювати шляхом імунізації лабораторних тварин, скринінгу фагової бібліотеки або з використанням відомих антитіл до CD3. Загальний легкий ланцюг, що має специфічність у відношенні CD3ε, створювали шляхом гуманізації легкого ланцюга батьківського мишиного антитіла до CD3ε (CH2527). Для гуманізації антитіла з організму крім людини CDR-залишки з нелюдського антитіла (донора) необхідно трансплантувати у каркасну ділянку людського (акцепторного) антитіла. Як правило, послідовності акцепторної каркасної ділянки відбирають шляхом вирівнювання послідовності донора з колекцією потенційних акцепторних послідовностей і вибору однієї, яка або має достатню гомологію з донором, або характеризується наявністю подібних амінокислот у деяких положеннях, що мають вирішальне значення з погляду структури й активності. У цьому випадку пошук акцепторної каркасної ділянки антитіла здійснювали шляхом вирівнювання послідовності мишиного VL-домену батьківського антитіла з колекцією послідовностей людської зародкової лінії й відбору людської послідовності, що характеризується високим ступенем ідентичності послідовності. Несподівано було встановлено, що хороша відповідність із погляду гомології послідовності каркасної ділянки має місце у випадку людського легкого ланцюга, що досить рідко зустрічається, що належить сімейства 7 V-доменів лямбда-типу, більш точно hVL_7_46 (номенклатура IMGT, GenBank, код доступу Z73674). Внаслідок цього вказаний людський легкий ланцюг, що рідко зустрічається, був вибраний як акцепторна каркасна ділянка для гуманізації легкого ланцюга CH2527. Три

гіперваріабельні ділянки (CDR) варіабельного домену мишиного легкого ланцюга були трансплантовані у вказану акцепторну каркасну ділянку. Оскільки ділянка каркасної ділянки 4 не є частиною варіабельної ділянки V-гена зародкової лінії, то вирівнювання в цій ділянці (J-елемент) здійснювали індивідуально. Таким чином, послідовність IGLJ3-02 була вибрана для

гуманізації вказаного легкого ланцюга.

Було створено тринадцять гуманізованих варіантів (CH2527-VL7_46-1-VL7_46-10, VL7_46-12-VL7_46-14). вони відрізнялися залишками каркасної ділянки (і їх комбінаціями), які були піддані зворотній мутації в напрямку послідовності мишиного V-домену, або CDR-залишками (визначення за Кеботом), які могли зберегтися ідентичними до залишків у послідовності людської зародкової лінії. Нижче представлені залишки каркасної ділянки, що знаходяться поза CDR, які за допомогою зворотної мутації були перетворені в мишині залишки в кінцевому варіанті гуманізованого VL-домену варіанта VL7_46-13 (перераховані мишині залишки): V36, E38, F44, G46, G49 і G57, відповідно. Людський J-елемент IGLJ3-02 був на 100 % ідентичний до J-елементу мишиного батьківського антитіла.

Приклад 3

Оцінка методом SPR гуманізованих варіантів, що мають специфічність у відношенні CD3ε

Оцінювали гуманізовані варіанти VL у вигляді химери у форматі "2+1 класична" (фіг. 1Г), тобто коли гуманізовані V-домени легкого ланцюга спарені з мишиними V-доменами важкого ланцюга. Оцінку методом SPR проводили з використанням обладнання ProteOn XPR36 (фірма Bio-Rad). Більш точно процедура полягала в наступному. Варіанти іммобілізували безпосередньо із супернатанта культури на дериватизованому антитілі до Fab сенсорному чіпі GLM (козячий антилюдський IgG, F(ab')₂-фрагмент-специфічний, фірма Jackson ImmunoResearch) у вертикальній орієнтації. Для оцінки зв'язування з CD3ε людини й мавп циномолгус послідовно ін'єкували в горизонтальній орієнтації в одній концентрації перераховані нижче аналіти: hu CD3ε(-1-26)-Fc("виступ")-avi (ID807), 3 мкМ, і су CD3ε(-1-26)-Fc("виступ")-avi-Fc("западина") (ID873), 2,5 мкМ, відповідно. Відповіді, що характеризують зв'язування, якісно порівнювали зі зв'язуванням мишиної контрольної конструкції й ранжували в такий спосіб: + (виявлений порівнянний рівень зв'язування), ± (виявлений знижений рівень зв'язування) і – (не виявлене зв'язування). Захоплююче антитіло регенерували після кожного циклу іммобілізації ліганду й зв'язування аналіту, і після закінчення дослідження повторно ін'єкували мишину конструкцію для підтвердження активності захоплюючої поверхні. Результати узагальнено в таблиці 3.

Таблиця 3 Якісна оцінка методом SPR зв'язування конструкцій, що містять гуманізовані варіанти легкого ланцюга, об'єднані з мишиним важким ланцюгом CH2527. В остаточному підсумку був вибраний тільки гуманізований варіант легкого ланцюга CH2527-VL7_46-13, виділений жирним шрифтом, який характеризувався порівнянним зв'язуванням з CD3ε людини й мавп циномолгус.

Гуманізований варіант VL	Зв'язування з CD3ε
мишина_CH2527-VL	+
CH2527-VL7_46-1	-
CH2527-VL7_46-2	-
CH2527-VL7_46-3	-
CH2527-VL7_46-4	-
CH2527-VL7_46-5	-
CH2527-VL7_46-6	-
CH2527-VL7_46-7	-
CH2527-VL7_46-8	-
CH2527-VL7_46-9	-
CH2527-VL7_46-10	-
CH2527-VL7_46-12	±
CH2527-VL7_46-13	+
CH2527-VL7_46-14	-

Приклад 4

Властивості гуманізованого загального легкого ланцюга, що має специфічність у відношенні CD3ε

Варіант V-домену легкого ланцюга, який був вибраний для гуманізованої лідерної молекули, являв собою VL7_46-13. Визначали ступінь гуманізації, тобто гомологію послідовності гуманізованого V-домену з послідовністю V-домену людської зародкової лінії. Для VL7_46-13 загальний ступінь ідентичності послідовності з найбільш близьким гомологом людської зародкової лінії становила 65 % до гуманізації й 80 % після гуманізації. Якщо виключити CDR-ділянки, то ступінь ідентичності послідовності з найбільш близьким гомологом людської зародкової лінії становив 92 %. Як продемонстровано в таблиці 3, VL7_46-13 є єдиним гуманізованим варіантом VL з панелі, що включає 13 варіантів, який характеризувався рівнем зв'язування, порівнянним з рівнем зв'язування батьківського мишиного антитіла, і зберігав також перехресну реактивність із CD3ε мавп циномогус. Цей результат свідчить про те, що гуманізація мишиного VL-домену без втрати афінності зв'язування з CD3ε, є нетривіальним завданням, яке вимагає здійснення декількох зворотних мутацій для відновлення залишків мишиної каркасної ділянки (зокрема G46), зберігаючи при цьому G24 в CDR1. Крім того, цей результат демонструє, що VL-домен відіграє вирішальну роль у розпізнаванні мішені. Важливим є те, що гуманізований VL-домен VL7_46-13 на основі людської зародкової лінії, що рідко зустрічається, що стосується сімейства 7 V-доменів лямбда-типу й зберігає афінність і специфічність у відношенні CD3ε, придатний також для застосування в якості загального легкого ланцюга у фагових дисплейних бібліотеках антитіл Fab-формату й дозволяє здійснювати успішну селекцію нових специфічностей, що значно полегшує створення й виробництво біспецифічних молекул, що зв'язуються з CD3ε і, наприклад, з мішенню на пухлині, що й мають один й той ж "загальний" легкий ланцюг.

Приклад 5

Створення фагової дисплейної бібліотеки антитіл з використанням загального легкого ланцюга на основі людської зародкової лінії, що має походження з HVK1-39

У декількох підходах до створення біспецифічних антитіл, що нагадують повнорозмірний людський IgG, застосовують модифікації Fc-ділянки, які індукують гетеродимеризацію двох різних важких ланцюгів. Відповідні приклади включають технології "knobs-into-holes" (Merchant і ін., Nat

Biotechnol.;16(7), липень 1998 р., стор. 677-681), технологію SEED (Davis і ін., Protein Eng Des Sel.; 23(4), квітень 2010 р., стор. 195-202) і технології на основі електростатичної взаємодії (Gunasekaran і ін., J Biol Chem.; 285(25), червень 2010 р., стор. 19637-19646). Хоча ці підходи дозволяють здійснювати ефективну гетеродимеризацію двох різних важких ланцюгів, правильне спарювання когнатних легких і важких ланцюгів залишається проблемою. Застосування загального легкого ланцюга (LC) може дозволити розв'язати цю проблему (Merchant і ін., Nat Biotech 16, 1998, стор. 677-681).

У даній заявці описане створення бібліотеки антитіл для дисплею на фагу M13. Важливим є те, що згідно з винаходом створюють багатокаркасну бібліотеку для важкого ланцюга з одним постійним (або "загальним") легким ланцюгом. Вказана бібліотека призначена для створення мультиспецифічних антитіл без необхідності застосування складних технологій для того, щоб уникнути помилкового спарювання легких ланцюгів.

За рахунок застосування загального легкого ланцюга одержання вказаних молекул може бути полегшене, оскільки в цьому випадку більше не відбувається помилкового спарювання й полегшує виділення високо очищеного біспецифічного антитіла. У порівнянні з іншими форматами застосування Fab-фрагментів як конструктивних елементів на відміну, наприклад, від застосування scFv-фрагментів, приводить до більш високої термостабільності й відсутності агрегування scFv і утворення міжмолекулярних scFv.

Створення бібліотеки

Нижче описане створення бібліотеки антитіл для дисплею на фагу M13. Важливим є те, що згідно з винаходом створюють багатокаркасну бібліотеку для важкого ланцюга з одним постійним (або "загальним") легким ланцюгом.

Згідно з винаходом у бібліотеці використовують наступні важкі ланцюги (коди доступу в GenBank вказані в дужках):

IGHV1-46*01 (X92343) (SEQ ID NO: 104),
IGHV1-69*06 (L22583) (SEQ ID NO: 105),
IGHV3-15*01 (X92216) (SEQ ID NO: 106),
IGHV3-23*01 (M99660) (SEQ ID NO: 107),
IGHV4-59*01 (AB019438) (SEQ ID NO: 108),
IGHV5-51*01 (M99686) (SEQ ID NO: 109)

У всіх важких ланцюгах застосовували IGHJ2 як J-елемент, за винятком IGHV1-69*06, у якій застосовували послідовність IGHJ6. Здійснювали рандомізацію CDR-H1, CDR-H2 і CDR-H3. Для CDR-H1 і CDR-H2 була вибрана стратегія "м'якої" рандомізації, і рандомізацію олігонуклеотидів здійснювали таким чином, щоб кодон, що кодує амінокислоту послідовності зародкової лінії, був присутній в 50 % випадків. На частку всіх інших амінокислот, за винятком цистеїну, у сумі доводилися 50 %, що залишилися. В CDR-H3, у якому була відсутня амінокислота зародкової лінії внаслідок присутності генетичного D-елемента, створювали такі олігонуклеотиди, які допускали застосування рандомізованих вставок між V-елементом і J-елементом довжиною від 4 до 9 амінокислот. Олігонуклеотиди, що втримувалися в цих рандомізованих ділянках, включали, наприклад, наступні амінокислоти. Три амінокислоти G/Y/S були присутні в кількості 15 % кожна, амінокислоти A/D/T/R/P/L/V/N/W/F/I/E були присутні в кількості 4,6 % кожна.

Приклади методів створення бібліотек антитіл описані в Hoogenboom і ін., Nucleic Acids Res., 19, 1991, стор. 4133-413; Lee і ін., J. Mol. Biol., 340, 2004, стор. 1073-1093.

Легкий ланцюг одержували на основі людської послідовності hVK1-39 і застосовували в немодифікованій і нерандомізованій формі. Це повинно гарантувати, що можна використовувати той самий легкий ланцюг для інших проектів без додаткових модифікацій.

Приклад селекції з використанням бібліотеки:

Селекцію з використанням бібліотек з дозрілою афінністю здійснювали в розчині відповідно до представленої нижче процедури з використанням мономерного й біотинілованого позаклітинного домену антигена-мішені X.

1. 10^{12} фагмідних частинок кожної бібліотеки зв'язували з 100 нМ біотинілованим розчинним антигеном протягом 0,5 год. у загальному об'ємі 1 мл. 2. Біотинілований антиген захоплювали й виділяли специфічно зв'язані фагові частки шляхом додавання $\sim 5 \times 10^7$ покритих стрептавідином магнітних гранул протягом 10 хв. 3. Гранули промивали з використанням 5-10×1 мл 3ФР/Твін 20 і 5-10×1 мл 3ФР. 4. Елюцію фагових частинок здійснювали протягом 10 хв шляхом додавання 1 мл 100 мМ ТЕА (триетиламін) і нейтралізації шляхом додавання 500 мкл 1М Трис/HCl, pH 7,4, і 5. На наступних раундах селекції здійснювали повторне зараження бактерії штаму TG1 E. coli на експонентній фазі росту, зараження хелперним фагом VCSM13 і наступне осадження фагмідних частинок за допомогою ПЕГ/NaCl. Селекції проводили, здійснюючи 3-5 раундів з використанням постійних або знижуваних (від 10^{-7} М до 2×10^{-9} М)

концентрацій антигену. При здійсненні раунду 2 проводили захоплення комплексів антиген/фаг з використанням нейтравідинових планшетів замість стрептавідинових гранул. Усі реакційні суміші для зв'язування доповнювали або 100 нМ бичачим сироватковим альбуміном, або порошкоподібним знежиреним молоком для конкуренції з небажаними клонам, що виникають внаслідок простого липкого зв'язування антитіл із пластиковою основою.

Селекції проводили, здійснюючи три або чотири раунди з використанням знижуваних концентрацій антигену, починаючи з 100 нМ і знижуючи їх до 5 нМ у кінцевому раунді селекції. Специфічні зв'язувальні агенти визначали за сигналами, що перевищують приблизно в 5 раз фоновий рівень, і ідентифікували за допомогою ELISA. Специфічні зв'язувальні агенти ідентифікували за допомогою ELISA у такий спосіб: по 100 мкл 10 нМ біотинізованого антигену на лунку іммобілізували на сенсibiliзовані нейтравідином планшети. Додавали бактеріальні супернатанти, що містять Fab, й проводили виявлення зв'язаних Fab за їх Flag-мітками з використанням вторинного антитіла анти-Flag/HRP. Позитивні за даними ELISA клони експресували в бактеріях у вигляді розчинних Fab-фрагментів в 96-лунковому форматі й проводили експеримент зі скринінгу супернатантів відносно кінетичних характеристик за допомогою SPR-аналізу з використанням ProteOn XPR36 (фірма BioRad). Ідентифікували клони, що експресують Fab, з найбільш високими константами афінності й секвенували відповідні фагміди. Для додаткової характеристики послідовності Fab ампліфікували за допомогою ПЛР із фагмід і клонували з використанням відповідних сайтів рестрикції в експресійних векторах для людського IgG1 з метою одержання в клітинах ссавців.

Створення бібліотеки антитіл для фагового дисплею з використанням гуманізованого CD3ε-специфічного загального легкого ланцюга

У даному розділі описане створення бібліотеки антитіл для дисплею на фагу M13. Важливим є те, що згідно з винаходом створювали багатокаркасну бібліотеку для важкого ланцюга з одним постійним (або "загальним) легким ланцюгом. Цю бібліотеку створювали для конструювання біспецифічних антитіл ізотипу IgG1 P329G LALA або IgG4 SPLE PG, що містять Fc, але які не мають активності відносно зв'язування з FcγR, що активують Т-клітини, у яких один або два Fab розпізнають пухлинний поверхневий антиген, експресований на пухлинній клітині, у той час як Fab-плече антитіла, що залишилося, розпізнає CD3ε на Т-клітині.

Створення бібліотеки

Нижче описане створення бібліотеки антитіл для дисплею на фагу M13. Важливим є те, що згідно з винаходом створювали багатокаркасну бібліотеку для важкого ланцюга з одним постійним (або "загальним) легким ланцюгом. Цю бібліотеку створювали винятково для конструювання біспецифічних антитіл ізотипу IgG1 P329G LALA або IgG4 SPLE PG, що містять Fc, але не мають активності відносно зв'язування з FcγR на Т-клітинах.

Різноманітність вносили за допомогою рандомізації олігонуклеотидів тільки в CDR3 різних важких ланцюгів. Методи створення бібліотек антитіл добре відомі в даній галузі й описані в Hoogenboom і ін., *Nucleic Acids Res.*, 19, 1991, стор. 4133-4413; або в Lee і ін., *J. Mol. Biol.*, 340, 2004, стор. 1073-1093.

При створенні бібліотеки застосовували наступні важкі ланцюги:

IGHV1-46*01 (X92343), (SEQ ID NO:104),
 IGHV1-69*06 (L22583), (SEQ ID NO:105),
 IGHV3-15*01 (X92216), (SEQ ID NO:106),
 IGHV3-23*01 (M99660), (SEQ ID NO:107),
 IGHV4-59*01 (AB019438), (SEQ ID NO:108),
 IGHV5-51*01 (M99686), (SEQ ID NO:109)

У бібліотеці застосовували легкий ланцюг, отриманий на основі специфічного у відношенні CD3ε людини й мавп циномолгус гуманізованого антитіла CH2527: (VL7_46-13; SEQ ID NO:112). Цей легкий ланцюг не рандомізували й застосовували без додаткових модифікацій для того, щоб гарантувати сумісність із іншими біспецифічними зв'язувальними агентами.

У всіх важких ланцюгах застосовували IGHJ2 як J-елемент, за винятком IGHV1-69*06, у якому застосовували послідовність IGHJ6. Стратегія рандомізації була сфокусована тільки на CDR-H3, і створювали ПЛР-олігонуклеотиди, які дозволяли застосовувати рандомізовані вставки між V-елементом і J-елементом довжиною від 4 до 9 амінокислот.

Приклад 6

Відбір фрагментів антитіл до FolR1 з бібліотек загальних легких ланцюгів (CLCL) (утримуючих легкий ланцюг зі специфічністю у відношенні CD3ε)

Антитіла 16A3, 15A1, 18D3, 19E5, 19A4, 15H7, 15B6, 16D5, 15E12, 21D1, 16F12, 21A5, 21G8, 19H3, 20G6 і 20H7, що містять загальний легкий ланцюг VL7_46-13 зі специфічністю до CD3ε, одержували за допомогою селекції методом фагового дисплею відносно різних видів

(людського, мавпячого (циномолгус) і мишиного) FolR1. Клони 16A3, 15A1, 18D3, 19E5, 19A4, 15H7, 15B6, 21D1, 16F12, 19H3, 20G6 і 20H7 відбирали з підбібліотеки, у якій загальний легкий ланцюг був спарений зі спектром важких ланцюгів на основі людської зародкової лінії VH1_46. У цій підбібліотеці CDR3 VH1_46 був рандомізований з використанням 6 різних по довжині CDR3.

Клони 16D5, 15E12, 21A5 і 21G8 відбирали з підбібліотеки, у якій загальний легкий ланцюг був спарений зі спектром важких ланцюгів на основі людської зародкової лінії VH3_15. У цієї підбібліотеке CDR3 VH3_15 був рандомізований з використанням 6 різних по довжині CDR3. Для одержання антитіл, що мають видову крос-реактивність (або реактивність до мишиного FolR1), при здійсненні 3 раундів біопенінгу чергували різним способом різні види FolR1 (або зберігали постійними): 16A3 і 15A1 (FolR1 людини – мавп цинолгус – людини); 18D3 (FolR1 мавп цинолгус – людини – мишей); 19E5 і 19A4 (3 раунду селекції проти FolR1 мишей); 15H7, 15B6, 16D5, 15E12, 21D1, 16F12, 21A5, 21G8 (FolR1 людини – мавп цинолгус – людини); 19H3, 20G6 і 20H7 (3 раунду селекції проти FolR1 мишей).

FolR1 людини, мишей і мавп цинолгус як антигени для селекцій методом фагового дисплея, а також для скринінгів на основі ELISA і SPR, короткочасно експресували у вигляді N-кінцевого мономерного Fc-злиття в клітинах HEK EBNA і *in vivo* сайт-специфічно біотинілували за допомогою спільної експресії біотинілази BirA на розпізнаваній аві-міткою послідовності, розташованій на C-кінці рецепторного ланцюга, що несе Fc-фрагмент (Fc-ланцюг із "виступом"). Для оцінки специфічності у відношенні FolR1 створювали в такий же спосіб два родинні рецептори, а саме людські FolR2 і FolR3.

Раунди селекції (біопенінг) здійснювали в розчині згідно з наступною схемою:

1. Преклірінг $\sim 10^{12}$ фагмідних частинок на планшетах Maxisorp сенсibiliзованих 10 мкг/мл неспорідненого людського IgG для виснаження бібліотек антитіл, що розпізнають Fc-ділянку, зливу з антигеном.

2. Інкубація фагмідних частинок, що не зв'язуються з Fc, з 100 нМ біотинілованого людського, мавпячого (циномолгус) або мишиного FolR1 протягом 0,5 год. у присутності 100 нМ неспорідненої небіотинілованої Fc-конструкції, сконструйованої за допомогою технології "knob-into-hole", для додаткового виснаження зв'язувальних Fc агентів у загальному об'ємі 1 мл.

3. Захоплення біотинілованого FolR1 і приєднаного фага, що специфічно зв'язується, шляхом переносу в 4 лунки попередньо покритого нейтравідином титраційного мікропланшета протягом 10 хв (у раундах 1 і 3).

4. Промивання відповідних лунок з використанням $5 \times 3\text{ФР/Твін}20$ і $5 \times 3\text{ФР}$.

5. Елюювання фагових частинок шляхом додавання по 250 мкл 100 мМ TEA (триетиламін) на лунку протягом 10 хв і нейтралізація шляхом додавання 500 мкл 1М Трис/HCl, pH 7.4 до об'єднаних елюатів, отриманих в 4 лунках.

6. Наступне очищення нейтралізованих елюатів шляхом інкубації на попередньо покритому нейтравідином титраційному мікропланшеті з використанням 100 нМ зв'язаного з біотином FolR2 або FolR3 для остаточного видалення агентів, що зв'язуються з Fc, і неспецифічних агентів.

7. Повторне зараження клітин E. coli TG1, що знаходяться на логарифмічній стадії, супернатантом елююваних фагових частинок, зараження хелперним фагом VCSM13, інкубація на шейкері при 30 °C протягом ночі й наступне осадження фагмідних частинок за допомогою ПЕГ/NaCl для використання на наступному раунді селекції.

Селекції проводили, здійснюючи 3 раунди з використанням постійних концентрацій антигену, що становили 100 нМ. У раунді 2 для запобігання збагачення агентами, що зв'язуються з нейтравідином, здійснювали захоплення комплексів антиген:фаг шляхом додавання $5,4 \times 10^7$ покритих стрептавідином магнітних гранул. Специфічні зв'язувальні агенти ідентифікували за допомогою ELISA у такий спосіб: 100 мкл 25 нМ біотинілованого людського, мавпячого (циномолгус) або мишиного FolR1 і 10 мкг/мл людського IgG наносили на нейтравідиновий планшет і планшет Maxisorp відповідно. Додавали бактеріальні супернатанти, що містять Fab, й зв'язування Fab виявляли за їх Flag-мітками з використанням вторинного антитіла анти-Flag/HRP. Складали шорт-лист клонів, що дають сигнали на людському FolR1, що й дають негативну відповідь на людському IgG, для подальшого аналізу й проводили їх тестування аналогічним способом у відношенні двох видів FolR1, що залишилися. Їх експресували в бактеріях в об'ємі культури, що становив 0,5 л, здійснювали афінне очищення й проводили додаткову характеристику за допомогою SPR-аналізу з використанням біосенсора ProteOn XPR36 фірми BioRad.

Афінності (K_D) відібраних клонів вимірювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR) за допомогою обладнання ProteOn XPR36 (фірма BioRad) при 25 °C з використанням біотинілованого FolR1 людини, мавп цинолгус або мишей, а також FolR2 і FolR3 людини

(негативні контролю), іммобілізованих на чіпах NLC за допомогою захоплення нейтравідином. Іммобілізація антигенів (ліганд): рекомбінантні антигени розводили за допомогою 3ФРТ (10 мМ фосфат, 150 мМ хлорид натрію, рН 7,4, 0,005 % Твін 20) до 10 мкг/мл, потім ін'єкували зі швидкістю 30 мкл/хв у вертикальній орієнтації. Ін'єкція аналітів: Для вимірювань кінетичних характеристик за один прогін ("one-shot-кінетика") напрямок ін'єкції змінювали на горизонтальну орієнтацію, ін'єкували дворазові серійні розведення очищеного Fab (змінюючи діапазони концентрацій) одночасно уздовж окремих каналів 1-5, тривалість асоціації становила 200 с, а тривалість дисоціації становила 600 с. Уздовж шостого каналу ін'єкували буфер (3ФРТ), створюючи "паралельний" ("in-line") порожній контроль для співставлення. Константи швидкості дисоціації (K_{off}) розраховували з використанням простої моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра за допомогою програми ProteOn Manager v3.1 шляхом одночасної апроксимації сенсограм асоціації й дисоціації. Константу рівноваги дисоціації (K_D) розраховували у вигляді відносини K_{off}/K_{on} . У таблиці 4 перераховані константи рівноваги дисоціації (K_D) відібраних клонів, що мають специфічність у відношенні FolR1.

Таблиця 4: Константи рівноваги дисоціації (K_D) для антитіл до FolR1 (Fab-формат), відібраних методом фагового дисплею з підбібліотек загальних легких ланцюгів, що містять VL7_46-13, гуманізований легкий ланцюг, специфічний у відношенні CD3ε. Величини K_D дані в нМ.

клон	huFolR1 (нМ)	cyFolR1 (нМ)	muFolR1 (нМ)	huFolR2 (нМ)	huFolR3 (нМ)
16A3	21.7	18	дуже слабке дуже	нема зв'язування	нема зв'язування
15A1	30.9	17.3	слабке дуже	нема зв'язування	нема зв'язування
16D3	93.6	40.2	слабке	нема зв'язування	нема зв'язування
19E5	522	276	19.4	нема зв'язування	нема зв'язування
19A4	2050	4250	43.1	нема зв'язування	нема зв'язування
15H7	13.4	72.5	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
15B6	19.1	13.9	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
16D5	39.5	114	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
15E12	55.7	137	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
21D1	нема зв'язування	32.1	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
16F12	нема зв'язування	90.9	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
21A5	68.8	131	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
21G8	130	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
19H3	no binding	нема зв'язування	89.7	нема зв'язування	нема зв'язування
20G6	no binding	no binding	76.5	нема зв'язування	нема зв'язування

Приклад 7

Відбір фрагментів антитіл з генеричних (родових) мультикаркасних бібліотек до FolR1

Антитіла 11F8, 36F2, 9D11, 5D9, 6B6 і 14E4 одержували шляхом селекцій методом фагового дисплею з використанням родових мультикаркасних підбібліотек проти FolR1 різних видів (людини, мавп циномогус або мишей). У цих мультикаркасних підбібліотеках різні VL-домени з рандомізованими CDR3 (3 різні довжини) спаровували з різними VH-доменами з рандомізованими CDR3 (6 різних довжин). Відібрані клони мали наступні спарені VL/VH: 11F8 (Vk_1_5/VH_1_69), 36F2 (Vk_3_20/VH_1_46), 9D11 (Vk2D_28/VH1_46), 5D9 (Vk3_20/VH1_46), 6B6 (Vk3_20/VH1_46) і 14E4 (Vk3_20/VH3_23). Для одержання антитіл, що мають видову крос-реактивність (або реактивність до мишиного FolR1), при здійсненні 3 або 4 раундів біопенінгу чергували по-різному FolR1 різних видів (або зберігали їх постійними): 11F8 (FolR1 мавп циномогус – мишей – людини); 36F2 (FolR1 людини – мишей – мавп циномогус – мишей); 9D11 (FolR1 мавп циномогус – людини – мавп циномогус); 5D9 (FolR1 людини – мавп циномогус – людини); 6B6 (FolR1 людини – мавп циномогус – людини) і 14E4 (3 раунду проти FolR1 мишей).

FolR1 людини, мишей і мавп циномогус, що застосовували як антигени для селекцій методом фагового дисплею, а також скринінгів на основі ELISA і SPR, короткочасно експресували у вигляді N-кінцевого мономерного Fc-злиття в клітинах HEK EBNA і сайт-специфічно біотинілували in vivo за допомогою спільної експресії біотинлігази BirA на послідовності, що розпізнаються аві-міткою, розташованій на C-кінці рецепторного ланцюга, що несе Fc-ділянку (Fc-ланцюг із "виступом"). Для оцінки специфічності у відношенні FolR1 створювали в такий же спосіб два родинні рецептори, а саме людські FolR2 і FolR3.

Раунди селекції (біопенінг) здійснювали в розчині згідно з наступною схемою:

1. Преклірінг $\sim 10^{12}$ фагмідних частинок на планшетах maxisorp сенсibiliзованих 10 мкг/мл неспорідненого людського IgG для виснаження бібліотек антитіл, що розпізнають Fc-ділянку, зливу з антигеном.

2. Інкубація фагмідних частинок, що не зв'язуються з Fc, з 100 нМ біотинізованого FolR1 людини, мавп циномолгус або мишей протягом 0,5 год. у присутності 100 нМ неспорідненої небіотинізованої Fc-конструкції, створеної за допомогою технології "knob-into-hole", для додаткового виснаження зв'язувальних Fc агентів у загальному об'ємі 1 мл.

3. Захоплення біотинізованого FolR1 і приєднаного, що специфічно зв'язується фага шляхом переносу в 4 лунки попередньо покритого нейтравідином титраційного мікропланшета протягом 10 хв (у раундах 1 і 3).

4. Промивання відповідних лунок з використанням $5 \times$ ЗФР/Твін20 і $5 \times$ ЗФР.

5. Елюювання фагових частинок шляхом додавання по 250 мкл 100 мМ TEA (триетиламін) на лунку протягом 10 хв і нейтралізація шляхом додавання 500 мкл 1М Трис/HCl, pH 7.4 до об'єднаних елюатів, отриманих в 4 лунках.

6. Наступне очищення нейтралізованих елюатів шляхом інкубації на попередньо покритому нейтравідином титраційним мікропланшеті з використанням 100 нМ зв'язаного з біотином FolR2 або FolR3 для остаточного видалення, що зв'язуються з Fc і неспецифічних агентів.

7. Повторне зараження клітин E. coli, що знаходяться на логарифмічній стадії, TG1 супернатантом елююваних фагових частинок, зараження хелперним фагом VCSM13, інкубація на шейкері при 30 °C протягом ночі й наступне осадження фагмідних частинок за допомогою ПЕГ/NaCl для використання на наступному раунді селекції.

Селекції проводили, здійснюючи 3 раунди з використанням постійних концентрацій антигену, що становили 100 нМ. У раундах 2 і 4 для запобігання збагачення агентами, що зв'язуються з нейтравідином, здійснювали захоплення комплексів антиген:фаг шляхом додавання $5,4 \times 10^7$ покритих стрептавідином магнітних гранул. Специфічні зв'язувальні агенти ідентифікували за допомогою ELISA у такий спосіб: 100 мкл 25нМ біотинізованого FolR1 людини, мавп циномолгус або мишей і 10 мкг/мл людського IgG наносили на нейтравідинові планшети й планшети Maxisorp відповідно. Додавали бактеріальні супернатанти, що містять Fab. й зв'язування Fab виявляли за їх Flag-мітками з використанням вторинного антитіла анти-Flag/HRP. Складали шорт-лист клонів, що дають сигнали на людському FolR1, що й дають негативну відповідь на людському IgG, для подальшого аналізу й проводили їх тестування аналогічним чином у відношенні FolR1, що залишилися двох видів. Їх експресували в бактеріях в об'ємі культури, що становив 0,5 л, здійснювали афінне очищення й проводили додаткову характеристику за допомогою SPR-аналізу з використанням біосенсора ProteOn XPR36 фірми BioRad. Афінності (K_D) відібраних клонів вимірювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR) за допомогою обладнання ProteOn XPR36 (фірма BioRad) при 25 °C з використанням біотинізованого FolR1 людини, мавп циномолгус або мишей, а також FolR2 і FolR3 людини (негативні контролю), іммобілізованих на чіпах NLC за допомогою захоплення нейтравідином. Іммобілізація антигенів (ліганд): рекомбінантні антигени розводили за допомогою ЗФРТ (10 мМ фосфат, 150 мМ хлорид натрію, pH 7,4, 0,005 % Твін 20) до 10 мкг/мл, потім ін'єкували зі швидкістю 30 мкл/хв у вертикальній орієнтації. Ін'єкція аналітів: Для вимірювань кінетичних характеристик за один прогін ("one-shot"-кінетика) напрямок ін'єкції змінювали на горизонтальну орієнтацію, ін'єкували дворазові серійні розведення очищеного Fab (змінюючи діапазони концентрацій) одночасно уздовж окремих каналів 1-5, тривалість асоціації становила 200 с, а тривалість дисоціації становила 600 с. Уздовж шостого каналу ін'єкували буфер (ЗФРТ), створюючи "паралельний" ("in-line") порожній контроль для зіставлення. Константи швидкості дисоціації (K_{off}) розраховували з використанням простої моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра за допомогою програми ProteOn Manager v3.1 шляхом одночасної апроксимації сенсограм асоціації й дисоціації. Константу рівноваги дисоціації (K_D) розраховували у вигляді відносини K_{off}/K_{on} . У таблиці 5 перераховані константи рівноваги дисоціації (K_D) відібраних клонів, що мають специфічність у відношенні FolR1.

Таблиця 5: Константи рівноваги дисоціації (K_D) для антитіл до FolR1 (Fab-формат), відібраних методом фагового дисплею з родових мультикаркасних бібліотек. Величини K_D представлені в нМ.

клон	K _d (нМ)				
	huFolR1	cyFolR1	muFolR1	huFolR2	huFolR3
11F8	632	794	1200	нема зв'язування	нема зв'язування
36F2	1810	1640	737	нема зв'язування	нема зв'язування
9D11	8.64	5.29	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
5D9	8.6	5.9	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
6B6	14.5	9.4	нема зв'язування	нема зв'язування	нема зв'язування
14E4	нема зв'язування	нема зв'язування	8.09	нема зв'язування	нема зв'язування

Приклад 8

Одержання й очищення нових FolR1-зв'язувальних агентів у форматі IgG і форматах біспецифічних молекул, що активують Т-клітину

Для ідентифікації FolR1-зв'язувальних агентів, які мають здатність індукувати залежний від Т-клітин цитоліз вибраних клітин-мішеней, антитіла, виділені з бібліотеки загальних легких ланцюгів або Fab-фрагментів перетворювали у відповідний формат людського IgG1. У цілому метод полягав у наступному. Варіабельні важкі й варіабельні легкі ланцюги унікальних FolR1-зв'язувальних агентів, отриманих за допомогою фагового дисплея, ампліфікували, здійснюючи стандартні ПЛР-реакції з використанням клонів Fab як матриці. ПЛР-продукти очищали й вбудовували (або за допомогою клонування, заснованого на застосуванні рестрикційної ендонуклеази й лігази, або за допомогою "рекомбінації" з використанням набору Infusion фірми Invitrogen) у придатні експресійні вектори, у яких їх зливали з відповідним людським константним важким або людським константним легким ланцюгом. Касети експресії в цих векторах включали химерний промотор MPSV і синтетичний сайт поліаденілування. Крім того, плазміди містили ділянку oriP з вірусу Епштейна-Бара для підтримки плазмід у стабільному стані в клітинах HEK293, що несуть ядерний антиген EBV (EBNA). Після опосередкованої PEI трансфекції антитіла короткочасно продукували в клітинах HEK293 EBNA і очищали за допомогою стандартної афінної хроматографії з використанням білка А і наступної гель-фільтрації згідно з описаним методом:

Короткочасна трансфекція й одержання

Усі використовувані згідно із даним винаходом (біспецифічні) антитіла (якщо їх не отримували в комерційних постачальників) короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA із застосуванням описаної нижче процедури опосередкованої PEI трансфекції з використанням відповідних векторів. Клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в середовищі CD CHO. Для одержання в струшувану колбу місткістю 500 мл висівали за 24 год. до трансфекції 400 млн клітин HEK293 EBNA (для інших масштабів виробництва всі кількості регулювали відповідним чином). Для здійснення трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 × g, супернатант заміняли на 20 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO до одержання кінцевої кількості 200 мкг ДНК. Після додавання 540 мкл PEI розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і потім інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/PEI, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 15 хв при 210 × g, розчин стерилізували фільтрацією (фільтр із розміром пор 0,22 мкм), додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.) і витримували при 4 °C. Після завершення виробництва супернатанти збирали, фільтрували супернатанти, що містять антитіло, через стерильні фільтри з розміром пор 0,22 мкм і зберігали при 4 °C до очищення.

Очищення антитіл

Усі молекули піддавали двостадійному очищенню із застосуванням стандартних процедур, таких як афінне очищення з використанням білка А (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення рН супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до рН 8,0 (використовуючи 2М Трис, рН 8,0) і вносили в колонку HiTrap PA FF (фірма GE Healthcare, об'єм колонки (cv) = 5 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (cv), буфером А (20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, рН 7,5). Після промивання з використанням 10 cv буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт рН до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, рН 3, 100 мМ NaCl, 100 мМ гліцин) з використанням об'єму, що дорівнює 12 cv. Об'єднували фракції, які містять білок, що представляє інтерес, і значення рН

розчину обережно доводили до pH 6,0 (використовуючи 0,5M Na₂HPO₄, pH 8,0). Зразки концентрували до 2 мл з використанням ультра-концентраторів (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, фірма Sartorius) і потім вносили в колонку для препаративної хроматографії HiLoad™16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare), урівноважену буфером, що містить 20 mM гістидин, pH 6,0, 140 mM NaCl, 0,01 % Твін-20. Вміст агрегатів в елюйованих фракціях аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації. Для цього по 30 мкл кожної фракції вносили в колонку для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить 25mM K₂HPO₄, 125mM NaCl, 200mM моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN₃, pH 6,7 при 25 °C. Фракції, що містять менше 2 % олігомерів, об'єднували й концентрували до кінцевої концентрації 1-1,5 мг/мл з використанням ультра-концентраторів (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, фірма Sartorius). Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом і без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки заморожували в рідкому N₂ і зберігали при -80 °C.

На основі результатів характеристики *in vitro* відібрані зв'язувальні агенти конвертували у формат біспецифічної молекули, що активує Т-клітину. У цих молекулах зв'язувальні FcR1:CD3 фрагменти розташовані відповідно до схеми 2:1, при цьому зв'язувальні FcR1 Fab-фрагменти локалізовані на N-кінці. Для клонів, виділених зі стандартної бібліотеки Fab, CD3-зв'язувальний фрагмент створювали у вигляді CrossFab (схрещування CH1Ск), у той час як для клонів, отриманих з використанням бібліотеки загальних легких ланцюгів, схрещування не було потрібно здійснювати. Вказані біспецифічні молекули одержували й очищали аналогічно до процедури, яку застосовували для IgG.

Таблиця 6: Вихід і вміст мономерів нових FcR1-зв'язувальних агентів у форматі IgG і TCB відповідно

№	клон	бібліотека	IgG		TCB	
			вихід [мг/л]	мономер [%]	вихід [мг/л]	мономер [%]
1	11F8	Fab	8,03	96,26	--	--
2	14E4	Fab	8,90	98,12	--	--
3	15B6	CLC	7,72	100,00	--	--
4	15E12	CLC	6,19	100,00	--	--
5	15H7	CLC	8,94	100,00	--	--
6	16A3	CLC	0,60	n.d.	--	--
7	16D5	CLC	36,50	96,96	4,36	97,19
8	16F12	CLC	5,73	97,17	--	--
9	18D3	CLC	0,90	n.d.	--	--
10	19A4	CLC	38,32	100,00	37,50	100,00
11	19E5	CLC	46,09	100,00	--	--
12	19H3	CLC	7,64	100,00	--	--
13	20G6	CLC	24,00	100,00	--	--
14	20H7	CLC	45,39	100,00	--	--
15	21A5	CLC	1,38	98,56	47,31	95,08
16	21D1	CLC	5,47	100,00	--	--
17	21G8	CLC	6,14	97,28	9,27	100,00
18	36F2	Fab	11,22	100,00	18,00	100,00
19	5D9	Fab	20,50	100,00	0,93	97,32
20	6B6	Fab	3,83	100,00	4,17	91,53
21	9D11	Fab	14,61	100,00	2,63	100,00

CLC: загальний легкий ланцюг

Приклад 9

Формати "2+1" і "1+1" біспецифічних молекул, що активують Т-клітину

Одержували чотири різні формати біспецифічних молекул, що активують Т-клітину для зв'язувального агента, що має один загальний легкий ланцюг (16D5) і три формати для одного зв'язувального агента з бібліотеки Fab (9D11) для порівняння їх здатності до цитолізу *in vitro*.

Стандартним форматом є вже описаний формат "2+1 інвертована" (FcR1:CD3-зв'язувальні фрагменти, розташовані відповідно до схеми 2:1, де FcR1-зв'язувальні Fab знаходяться на N-

кінці). У класичному форматі 2+1 FolR1:CD3-зв'язувальні фрагменти розташовані відповідно до схеми 2:1, де CD3-зв'язувальний Fab знаходиться на N-кінці. Одержували також два одновалентні формати. У форматі "1+1 "голова-до хвоста» FolR1:CD3-зв'язувальні фрагменти розташовані відповідно до схеми 1:1 на тому самому плечі молекули, при цьому FolR1-зв'язувальний Fab знаходиться на N-кінці. У класичному форматі "1+1" присутні по одному з FolR1:CD3-зв'язувальних фрагментів, кожний з яких знаходиться на одному плечі молекули. Для клону 9D11, виділеного зі стандартної бібліотеки Fab, CD3-зв'язувальний фрагмент створювали у вигляді CrossFab (схрещування CH1Ск), у той час як для 16D5, отриманого з використанням бібліотеки загальних легких ланцюгів, схрещування не було потрібно. Вказані біспецифічні молекули одержували й очищали аналогічно до процедури, яку застосовували для стандартного інвертованого формату біспецифічної молекули, що активує Т-клітину.

Таблиця 7: Узагальнення даних про вихід і кінцевий вміст мономерів для різних форматів біспецифічних молекул, що активують Т-клітину

Конструкція	Вміст мономерів [%] (за даними ГФ)	Вихід
16D5, FolR1-TCB 2+1 (інвертована)	96 %	5,4 мг/л
16D5, FolR1-TCB 2+1 (класична)	90 %	4,6 мг/л
16D5, FolR1-TCB 1+1 ("голова-до хвоста")	100 %	5,4 мг/л
16D5, FolR1-TCB 1+1 (класична)	100 %	0,7 мг/л
9D11, FolR1-TCB 2+1 (інвертована)	100 %	2,6 мг/л
9D11, FolR1-TCB 1+1 ("голова-до хвоста")	100 %	6,1 мг/л
9D11, FolR1-TCB 1+1 (класична)	96 %	1,3 мг/л
Mov19, FolR1-TCB 2+1 (інвертована)	98 %	3 мг/л
Mov19, FolR1-TCB 1+1 ("голова-до хвоста")	100 %	5,2 мг/л

Приклад 10

Визначення біохімічних характеристик FolR1-зв'язувальних агентів за допомогою поверхневого плазмонного резонансу

Зв'язування FolR1-зв'язувальних агентів у вигляді IgG або у форматі біспецифічної молекули, що активує Т-клітину з різними рекомбінантними фолатними рецепторами (людські FolR1, 2 і 3, мишиний FolR1 і FolR1 мавп циномолгус; усе у вигляді злиттів з Fc) оцінювали за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR). Усі експерименти із застосуванням SPR здійснювали на обладнанні BIAcore T200 при 25 °C з використанням HBS-EP як рухомий буфер (0,01M HEPES, pH 7,4, 0,15M NaCl, 3мМ ЕДТА, 0,005 % сурфактант P20, фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина).

Однократні ін'єкції

Спочатку аналізували анти-FolR1 IgG, здійснюючи однократні ін'єкції (таблиця 1) для характеристики їх крос-реактивності (до FolR1 людини, мишей і мавп циномолгус) і специфічності (у відношенні людського FolR1, людського FolR2, людського FolR3). Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинізованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (FolR1-Fc) або людським фолатним рецептором 2 і 3 (FolR2-Fc, FolR3-Fc) з Sa-чіпом згідно з інструкцією зі здійснення стандартної комбінації (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації становив приблизно 300-400 RU. IgG ін'єкували протягом 60 с у концентрації 500 нМ. Зв'язування IgG з huFolR2 і huFolR3 відбраковували внаслідок відсутності специфічності. Більшість зв'язувальних агентів мали крос-реактивність тільки до людського й супоFolR1, додаткова крос-реактивність до мишиного FolR1 у більшості випадків супроводжувалася втратою специфічності.

Таблиця 8: Крос-реактивність і специфічність 25 нових зв'язувальних фолатний рецептор 1 агентів (у вигляді IgG), а також двох контрольних IgG (Mov19 і фарлетузумаба). + позначає наявність зв'язування, - позначає відсутність зв'язування, ± позначає наявність слабого зв'язування

Позначення клону	Зв'язування з huFolR1	Зв'язування з суFolR1	Зв'язування з муFolR1	Зв'язування з huFolR2	Зв'язування з huFolR3
Mov19	+	+	-	-	-
фарлетузумаб	+	+	-	-	-
16A3	+	+	±	-	-
18D3	+	+	-	-	-
19E5	+	+	+	+	+

Позначення клону	Зв'язування з huFolR1	Зв'язування з cyFolR1	Зв'язування з muFolR1	Зв'язування з huFolR2	Зв'язування з huFolR3
19A4	-	-	+	+	+
15H7	+	+	+	-	-
15B6	+	+	-	-	-
16D5	+	+	-	-	-
15E12	+	+	±	+	+
21D1	+	+	±	-	-
16F12	+	+	-	-	-
21A5	+	+	-	-	±
21G8	+	+	-	+	+
19H3	-	-	+	-	-
20G6	-	-	+	-	-
20H7	-	-	+	-	-
9D11	+	+	-	-	-
5D9	+	+	-	+	+
6B6	+	+	-	+	+
11F8	+	+	+	+	+
36F2	+	+	+	-	-
14E4	-	-	+	-	-

Авідність до фолатного рецептора 1

5 Авідність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами визначали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 9).

Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолюс і мишей (FolR1-Fc) з Sa-чипом згідно з інструкцією зі здійснення стандартної комбінації (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації становив приблизно 300-400 RU. Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, в діапазоні концентрацій від 2,1 до 500 нМ пропускали зі швидкістю 30 мкл/хв через проточні гнізда протягом 180 с. Моніторинг дисоціації здійснювали протягом 600 с. Усі відмінності в коефіцієнті заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці з іммобілізованим злиттям рекомбінантний біотинілований рецептор IL2-Fc. Для аналізу взаємодії між 19H3 IgG і мишиним фолатним рецептором 1, додавали фолат (фірма Sigma, каталожний номер F7876) у проточному буфері HBS-EP у концентрації 2,3 мкМ. Криві зв'язування, отримані в результаті двовалентного зв'язування IgG або біспецифічних молекул, що активують Т-клітину, апроксимували на основі моделі зв'язування за типом 1:1 Ленгмюра й підганяли до цієї моделі (що не є коректним, але дозволяє судити про авідності). Уявні константи авідності, що характеризують взаємодії, одержували на основі констант швидкості, визначених у результаті припасування з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 9: Двовалентне зв'язування (авідність, що характеризується уявною величиною K_D) відібраних FolR1-зв'язувальних агентів у вигляді IgG або у вигляді біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB) з FolR1 людини й мавп циномолюс

Аналіт	Ліганд	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	Уявна величина K_D (М)
16D5 TCB	huFolR1	8,31E+04	3,53E-04	4,24E-09
	cyFolR1	1,07E+05	3,70E-04	3,45E-09
9D11 TCB	huFolR1	1,83E+05	9,83E-05	5,36E-10
	cyFolR1	2,90E+05	6,80E-05	2,35E-10
21A5 TCB	huFolR1	2,43E+05	2,64E-04	1,09E-09
	cyFolR1	2,96E+05	2,76E-04	9,32E-10
36F2 IgG	huFolR1	2,62E+06	1,51E-02	5,74E-9
	cyFolR1	3,02E+06	1,60E-02	5,31E-9
	muFolR1	3,7E+05	6,03E-04	1,63E-9
Mov19 IgG	huFolR1	8,61E+05	1,21E-04	1,4E-10
	cyFolR1	1,29E+06	1,39E-04	1,08E-10

Аналіт	Ліганд	ka (1/Мс)	kd (1/с)	Уявна величина K_D (М)
фарлетузимаб	huFolR1	1,23E+06	9E-04	7,3E-10
	cyFolR1	1,33E+06	8,68E-04	6,5E-10
19H3 IgG	muFolR1	7,1E+05	1,1E-03	1,55E-09

Афінність до фолатного рецептора 1

Афінність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами визначали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 10).

Для вимірювання афінності здійснювали безпосередню комбінацію антилюдського Fab-специфічного антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня, що відповідає приблизно 6000-7000 резонансних одиниць (RU), на CM5-чипі при pH 5,0 з використанням набору для здійснення стандартного амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, в концентрації 20 нМ захоплювали при швидкості потоку 10 мкл/хв протягом 20 або 40 с, у проточній референс-комірці захоплення не здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 6,17 до 500 нМ або від 12,35 до 3000 нМ) злиттів людський або мавпячий (циномолгус) фолатний рецептор 1-Fc при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 120 або 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 240 с і для запуску заміняли розчин для зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу, використовуючи дві ін'єкції по 60 с із використанням 10 мМ гліцину-HCl, pH 2,1. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці 1. Константи афінності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 10: Одновалентне зв'язування (афінність) відібраних FolR1-зв'язувальних агентів у вигляді IgG або у вигляді біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB) з людським FolR1 і cynoFolR1

Ліганд	Аналіт	ka (1/Мс)	kd (1/с)	K_D (М)
16D5 TCB	huFolR1	1,53E+04	6,88E-04	4,49E-08
	cyFolR1	1,32E+04	1,59E-03	1,21E-07
9D11 TCB	huFolR1	3,69E+04	3,00E-04	8,13E-09
	cyFolR1	3,54E+04	2,06E-04	5,82E-09
21A5 TCB	huFolR1	1,79E+04	1,1E-03	6,16E-08
	cyFolR1	1,48E+04	2,06E-03	1,4E-07
Mov19 IgG	huFolR1	2,89E+05	1,59E-04	5,5E-10
	cyFolR1	2,97E+05	1,93E-04	6,5E-10
фарлетузимаб	huFolR1	4,17E+05	2,30E-02	5,53E-08
	cyFolR1	5,53E+05	3,73E-02	6,73E-08

Афінність до CD3

Афінність взаємодії між анти-FolR1 біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й злиттям рекомбінантний людський CD3εδ-Fc визначали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 11).

Для вимірювання афінності здійснювали безпосередню комбінацію антилюдського Fab-специфічного антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня, що відповідає приблизно 9000 резонансних одиниць (RU), з CM5-чипом при pH 5,0 з використанням набору для здійснення стандартного амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FolR1, біспецифічні молекули, що активують Т-клітину в концентрації 20 нМ захоплювали при швидкості потоку 10 мкл/хв протягом 40 с, у проточній референс-комірці захоплення не здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 6,17 до 500 нМ) злиття людський CD3εδ-Fc при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 240 с і для запуску заміняли розчин зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу за допомогою двох ін'єкцій гліцину-HCl у концентрації 10 мМ, pH 2,1, протягом 60 с кожна. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці 1. Константи афінності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 11: Одновалентне зв'язування (афінність) відібраних FolR1-зв'язувальних біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB) зі злиттям людський CD3-Fc

Ліганд	Аналіт	ka (1/Mc)	kd (1/c)	K _D (M)
16D5 TCB	huCD3	4,25E+04	3,46E-03	8,14E-08
21A5 TCB	huCD3	3,72E+04	3,29E-03	8,8E-08

CD3-зв'язувальний фрагмент був однаковим для всіх конструкцій і афінність виявилася подібною для проаналізованих біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (величини K_D знаходилися в діапазоні від 60 до 90 нМ).

Приклад 11

Одночасне зв'язування біспецифічних молекул, що активують Т-клітину з фолатним рецептором 1 і CD3

Одночасне зв'язування анти-FolR1 біспецифічних молекул, що активують Т-клітини, з рекомбінантним фолатним рецептором 1 і злиттям рекомбінантний людський CD3εδ-Fc визначали за допомогою поверхневого плазмонного резонансу відповідно до описаного нижче методу. Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілизованого мономерного Fc з рецептором 1 людини, мавп циномоглус і мишей (FolR1-Fc) з SA-чіпом згідно зі стандартними інструкціями по здійсненню комбінацій (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації становив приблизно 300-400 RU. Анти-FolR1 біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, в концентрації 500 нМ ін'єкували протягом 60 із при швидкості потоку 30 мкл/хв через проточні гнізда, після чого здійснювали ін'єкцію hu CD3εδ-Fc у концентрації 500 нМ протягом 60 с. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці з іммобілізованим злиттям рекомбінантний біотинілований рецептор IL2-Fc. Чотири протестовані біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, (16D5 TCB, 21A5 TCB, 51C7 TCB і 45D2 TCB), як і очікувалося, мали здатність до одночасного зв'язування з фолатним рецептором 1 і людським CD3.

Приклад 12

Групування залежно від епітопу

Для визначення групування залежно від епітопу здійснювали безпосередню іммобілізацію анти-FolR1 IgG або біспецифічних молекул, що активують Т-клітини, на CM5-чіпі при pH 5,0 з використанням набору для стандартного амінного сполучення (фірма GE Healthcare) до досягнення кінцевої відповіді, що відповідає приблизно 700 RU. Після цього здійснювали захоплення 500 нМ huFolR1-Fc протягом 60 с, а потім різних зв'язувальних агентів у концентрації 500 нМ протягом 30 с. Поверхня регенерували, здійснюючи дві ін'єкції з використанням 10 mM гліцину, pH 2, протягом 30 с кожна. Оцінювали, чи можуть різні зв'язувальні агенти зв'язуватися з huFolR1, захопленому іммобілізованими зв'язувальними агентами (таблиця 12).

Таблиця 12: Характеризація залежно від епітопів на людському FolR1 відібраних FolR1-зв'язувальних агентів у вигляді IgG або у вигляді біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB). + позначає наявність зв'язування, - позначає відсутність зв'язування, ± позначає наявність слабкого зв'язування.

		Аналіти в розчині					
	на huFolR1	16D5 TCB	21A5 TCB	9D11 TCB	36F2 IgG	Mov19 IgG	фарлетузимаб
Іммобілізовані	16D5 TCB	-	-	-	+	+	+
	21A5 TCB	-	-	-	+	+	+
	9D11 TCB	додаткове зв'язування на FolR1 неможливо після захоплення на 9D11					
	36F2 IgG	виміряти виявилось неможливо через занадто швидку дисоціацію huFolR1					
	Mov19 IgG	+	+	±	-	-	-

На основі цих результатів і додаткових даних про одночасне зв'язування на іммобілізованому huFolR1 зв'язувальні агенти були розділені на три групи. Залишилося нез'ясованим, чи має 9D11 окремий епітоп, оскільки його витісняють усі інші зв'язувальні агенти. 16D5 і 21A5, ймовірно, входять в одну групу, а Mov19, фарлетузимаб (Coney і ін., Cancer Res., 51(22), 15 листопада 1991 р., стор. 6125-6132; Kalli і ін., Curr Opin Investig Drugs., 8(12), грудень 2007 р., стор. 1067-1073) і 36F2 входять в іншу групу (таблиця 13). Однак 36F2 зв'язується з епітопом, відмінним від того, з яким зв'язуються Mov 19 і фарлетузимаб, оскільки він зв'язується з FolR1 людини, мавп циномоглус і мишей.

Таблиця 13: Групування залежно від епітопу на людському FolR1 відібраних FolR1-зв'язувальних агентів у вигляді IgG або у вигляді біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB)

Епітоп 1	Епітоп 2	Епітоп 3
16D5	9D11	Mov19
21A5		фарлетузумаб
		36F2

5

Приклад 13

Відбір зв'язувальних агентів

Здійснювали скринінг FolR1-зв'язувальних агентів у форматі IgG за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR) і аналізу *in vitro* на клітинах для відбору найбільш перспективних кандидатів.

10

Анти-FolR1 IgG аналізували за допомогою SPR для характеристики їх крос-реактивності (до FolR1 людини, мишей і мавп циномоглус) і специфічності (у відношенні людського FolR1, людського FolR2, людського FolR3). Неспецифічне зв'язування з людським FolR2 і 3 розглядали як критерій виключення. Дані про зв'язування й специфічності у відношенні людського FolR1 підтверджували на клітинах. Деякі зв'язувальні агенти не зв'язувалися на клітинах, що експресують FolR1, навіть незважаючи на те, що вони розпізнавали рекомбінантний людський FolR1 за даними аналізу методом SPR. Визначали температуру агрегації, але її не розглядали як критерій виключення, оскільки всі відібрані зв'язувальні агенти були стабільними. Відібрані зв'язувальні агенти тестували за допомогою ELISA для визначення поліреактивності з метою перевірки наявності неспецифічного зв'язування, що привело до виключення чотирьох зв'язувальних агентів. У результаті цього процесу спочатку були відібрано три зв'язувальні агенти: 36F2 (бібліотека Fab), 9D11 (бібліотека Fab) і 16D5 (загальний легкий ланцюг). Дисоціація 36F2 з комплексу з huFolR1 відбувалася занадто швидко й отже відразу було очевидно, що він не мав переваги.

15

20

25

Приклад 14

Специфічне зв'язування нових сконструйованих FolR1-зв'язувальних агентів з позитивними за людським FolR1 пухлинними клітинами

Нові FolR1-зв'язувальні агенти конструювали за допомогою методу фагового дисплею з використанням або бібліотеки Fab, або бібліотеки загальних легких ланцюгів (CLCL), створених з використанням легкого ланцюга CD3. Ідентифіковані зв'язувальні агенти конвертували у формат людського IgG1 і аналізували зв'язування з, що характеризуються високим рівнем експресії FolR1 клітинами HeLa. Як референс-молекулу застосовували зв'язувальний людський FolR1 клон Mov19. Більшість із протестованих у цьому досліді зв'язувальних агентів характеризувалися рівнем зв'язування з FolR1 від проміжного до високого, при цьому деякі клони мали такою ж здатність до зв'язування, що й Mov19 (див. фіг. 2). Клони 16A3, 18D3, 15H7, 15B6, 21D1, 14E4 і 16F12 були виключені, оскільки їх зв'язування з FolR1 на клітинах не вдалося підтвердити за допомогою проточної цитометрії. На наступній стадії відібрані клони тестували відносно специфічності до людського FolR1, крім клонів, які зв'язувалися із близько родинним людським FolR2. Для аналізу специфічності клітини HEK короткочасно трансфектували або людським FolR1, або людським FolR2. Клони 36F2 і 9D11, отримані з бібліотеки Fab, і клони 16D5 і 21A5, отримані з бібліотеки CLC, специфічно зв'язувалися з людським FolR1 і не зв'язувалися з людським FolR2 (див. фіг. 3А-Б). Усі інші протестовані клони мали принаймні невелику здатність зв'язуватися з людським FolR2 (див. фіг. 3А-Б). Внаслідок цього вказані клони були виключені при проведенні подальшої характеристики. Паралельно аналізували крос-реактивність зв'язувальних FolR1 клонів з супоFolR1, вивчаючи здатність до зв'язування із клітинами HEK, короткочасно трансфектованими супоFolR1. Усі протестовані клони мали здатність до зв'язування з супоFolR1, а чотири відібрані специфічні у відношенні людського FolR1 клону 36F2, 9D11, 16D5 і 21A5 мали порівнянну високу здатність до зв'язування з людським FolR1 і супоFolR1 (фіг. 4). Потім три специфічні у відношенні людського FolR1 зв'язувальних агента, що мають крос-реактивність з супоFolR1, конвертували у формат TCB і тестували відносно індукції опосередкованого Т-клітиною цитолізу й активації Т-клітин. Вказані клони являли собою клон 9D11, отриманий з бібліотеки Fab і клони 16D5 і 21A5 з бібліотеки CLC. Як референс-молекулу у всіх дослідженнях застосовували FolR1-TCB Mov19. Потім вказані FolR1-TCB застосовували для порівняння індукції інтерналізації після зв'язування з FolR1 на клітинах HeLa. Усі три протестовані клони характеризувалися інтерналізацією після зв'язування з FolR1, порівнянною з інтерналізацією після зв'язування FolR1-TCB Mov19 (фіг. 5).

30

35

40

45

50

55

Вивчення FolR1-TCB 21A5 припинили внаслідок виявлення ознак поліреактивності.

Приклад 15

Опосередковуваний Т-клітиною цитоліз пухлинних клітин-мішеней, що експресують FolR1, індукований антитілами FolR1-TCB

5 FolR1-TCB застосовували для оцінки опосередкованого Т-клітиною цитолізу пухлинних клітин, що експресують FolR1. Для визначення сайтів зв'язування FolR1 за допомогою аналізу з використанням набору Qifikit застосовували панель ліній потенційних клітин-мішеней.

Застосовувана панель пухлинних клітин включала пухлинні клітини з високим, проміжним і низьким рівнем експресії FolR1 і FolR1-негативну лінію клітин.

10 Таблиця 14: Сайти зв'язування FolR1 на пухлинних клітинах

Лінія клітин	Походження	Сайти зв'язування FolR1
HeLa	аденокарцинома шийки матки	2240716
Skov3	аденокарцинома яєчника	91510
OVCAR5	аденокарцинома яєчника	22077
HT29	аденокарцинома ободової кишки	10135
MKN45	аденокарцинома шлунку	54

15 Оцінювали зв'язування трьох різних FolR1-TCB (включаючи зв'язувальні агенти 9D11, 16D5 і Mov19) із вказаною панеллю ліній пухлинних клітин і було продемонстровано, що FolR1-TCB специфічно зв'язувалися з пухлинними клітинами, що експресують FolR1, й не зв'язувалися з FolR1-негативною лінією пухлинних клітин. Кількість зв'язаних конструкцій пропорційно до рівня експресії FolR1 і при цьому виявилось можливим виявити усе ще досить високе зв'язування з лінією клітин HT-29, що характеризується низьким рівнем експресії FolR1. Крім того, не було виявлено зв'язування, що служить як негативний контроль TCB DP47 з жодною з клітинних ліній, що застосовувалися (фіг. 6A-D).

20 Потім клітинну лінію SKOV3, що характеризується проміжним рівнем експресії, і клітинну лінію HT-29, що характеризується низьким рівнем експресії, використовували для тестування опосередкованого Т-клітинами цитолізу й активації Т-клітин з використанням TCB 16D5 і TCB 9D11; TCB DP47 включали як негативний контроль. Обидві клітинні лінії гинули вже в присутності низьких рівнів TCB 16D5 і TCB 9D11 і при цьому не було виявлено відмінності в активності між обома TCB навіть незважаючи на те, що TCB 9D11 мала більш сильну здатність до зв'язування з FolR1, ніж TCB 16D5. Загальний рівень цитолізу клітин SKOV3 був вище в порівнянні з HT-29, що відображає більш високі рівні експресії FolR1 на клітинах SKOV3 (фіг. 7A-Г). Із цим узгоджується й те, що була виявлена сильна підвищувальна регуляція маркера активації CD25 і CD69 на CD4⁺-Т-клітинах і CD8⁺-Т-клітинах. Активация Т-клітин виявилася дуже подібною в присутності як клітин SKOV3, так і клітин HT-29. Застосовувана як негативний контроль TCB DP47 не індукувала цитоліз у застосовуваних концентраціях і не було виявлено значимої підвищувальної регуляції CD25 і CD69 на Т-клітинах.

30 Таблиця 15: Величини EC₅₀, що характеризують цитоліз пухлинних клітин і рівень активації Т-клітин у присутності клітин SKOV3

Конструкція	Цитоліз, 24 год. (пМ)	Цитоліз, 48 год. (пМ)	CD4+CD69+ (%)	CD4+CD25+ (%)	CD8+CD69+ (%)	CD8+CD25+ (%)
FolR1-TCB 9D11	1,1	0,03	0,51	0,46	0,019	0,03
FolR1-TCB 16D5	0,7	0,04	0,34	0,33	0,025	0,031

Таблиця 16: Величини EC₅₀, що характеризують цитоліз пухлинних клітин і рівень активації Т-клітин у присутності клітин HT-29

Конструкція	Цитоліз, 24 год. (пМ)	Цитоліз, 48 год. (пМ)	CD4+CD69+ (%)	CD4+CD25+ (%)	CD8+CD69+ (%)	CD8+CD25+ (%)
FolR1-TCB 9D11	2,3	0.1	1,22	1,11	0,071	0,084
FolR1-TCB 16D5	2,8	0,1	0,69	0,62	0,021	0,028

5 Приклад 16

Зв'язування з еритроцитами й активація Т-клітин у цільній крові

Для доказу того, що спонтанна активація не має місця за відсутності пухлинних клітин, що експресують FolR1, при створенні винаходу було проведено дослідження питання про те, чи відбувається зв'язування FolR1-зв'язувальних клонів з еритроцитами, які потенційно можуть експресувати FolR1. Не було виявлено ніякого специфічного зв'язування IgG 9D11, IgG 16D5 і IgG Mov19 з еритроцитами, при цьому як негативний контроль застосовували IgG DP47 (фіг. 8).

Для того, щоб виключити будь-яке інше неспецифічне зв'язування із клітинами крові або неспецифічну активацію через FolR1-TCB, у цільну кров додавали TCB 9D11, TCB 16D5 і TCB Mov19 і аналізували підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 на CD4⁺-Т-клітинах CD8⁺-Т-клітинах за допомогою проточної цитометрії. TCB DP47 включали як негативний контроль. При аналізі підвищувальної регуляції CD25 і CD69 на CD4⁺-Т-клітинах CD8⁺-Т-клітинах не було виявлено активації Т-клітин будь-якої із протестованих конструкцій (фіг. 9).

Приклад 17

Видалення сайту N-глікозилювання в легкому ланцюзі 9D11

При аналізі різних FolR1-зв'язувальних агентів з метою ідентифікації потенційних « гарячих точок » у послідовності був ідентифікований передбачуваний сайт N-глікозилювання на кінці CDR L3 клону 9D11. Як правило, консенсусний мотив для N-глікозилювання має вигляд N-X-S/T-X (де X не означає Р). Послідовність CDR L3 (MQASIMNRT) (SEQ ID NO: 61) ідеально відповідає цьому консенсусному мотиву, тому що несе послідовність N-R-T. Оскільки глікозилювання може не повністю відтворюватися серед різних партій продукту, то це може впливати на зв'язування з FolR1, якщо глікозилювання в CDR L3 вносить вклад у зв'язування з антигеном. Для оцінки того, чи важливий цей сайт N-глікозилювання для зв'язування з FolR1, або його можна замінити без погіршення зв'язування, конструювали різні варіанти легкого ланцюга 9D11, у яких сайт N-глікозилювання був замінений за допомогою сайтспецифічного мутагенезу.

1. Короткочасна трансфекція й одержання

Чотири біспецифічні молекули, що активують Т-клітини, короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA із застосуванням описаної нижче процедури опосередкованої ПЕІ трансфекції з використанням відповідних векторів. Клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в середовищі CD CHO. Для виробництва в струшувану колбу місткістю 500 мл висівали за 24 год. до трансфекції 400 млн клітин HEK293 EBNA (для інших масштабів виробництва всі кількості регулювали відповідним чином). Для здійснення трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 × g, супернатант заміняли на 20 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO до одержання кінцевої кількості ДНК 200 мкг. Після додавання 540 мкл ПЕІ розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і потім інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/ПЕІ, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 15 хв при 210 × g, розчин стерилізували фільтрацією (фільтр із розміром пор 0,22 мкм), додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.) і витримували при 4 °C. Після завершення виробництва супернатанти збирали, фільтрували супернатанти, що містять антитіло, через стерильні фільтри з розміром пор 0,22 і зберігали при 4 °C до очищення.

2. Очищення антитіл

Усі молекули піддавали двостадійному очищенню із застосуванням стандартних процедур,

таких як афінне очищення з використанням білка А (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення рН супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до рН 8,0 (використовуючи 2М ТРИС, рН 8,0) і вносили в HiTrap PA FF (фірма GE Healthcare, об'єм колонки (cv) = 5 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (cv),
 5 буфером А (20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, рН 7,5). Після промивання з використанням 10 cv буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт рН до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, рН 2,5, 0,5 мМ NaCl, 0,01 % Твін 20) з використанням об'єму, що дорівнює 12 cv. Об'єднували фракції, які містять білок, що представляє інтерес, і значення рН розчину обережно доводили до рН 6,0 (використовуючи 2М Трис, рН 8,0). Зразки концентрували до 1 мл
 10 з використанням ультра-концентраторів (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, фірма Sartorius) і потім вносили в колонку для препаративної хроматографії HiLoad™16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare), урівноважену буфером, що містить 20 мМ гістидин, рН 6,0, 140 мМ NaCl, 0,01 % Твін-20. Вміст агрегатів в елюйованих фракціях аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить
 15 25мМ K₂HPO₄, 125мМ NaCl, 200мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN₃, рН 6,7 при 25 °С. Фракції, що містять менше 2 % олігомерів, об'єднували й концентрували до кінцевої концентрації 1-1,5 мг/мл з використанням ультра-концентраторів (Vivaspin 15R 30.000 MWCO HY, фірма Sartorius). Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ)
 20 при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом і без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки заморожували в рідкому N₂ і зберігали при -80 °С.

3. Температура агрегації

Стабільність чотирьох конструцій тестували за допомогою обладнання Optim1000 (Avacta, фірма PALL Corporation), здійснюючи градієнтний нагрівання від 25 до 80 °С зі швидкістю 0,1 °С/хв. Реєстрували температуру початку агрегації.

Таблиця 34: Вихід, вміст мономерів і температура агрегації чотирьох мутантів зв'язувального агента у форматі біспецифічної молекули, що активує Т-клітину, 9D11 "2+1 інвертована" з "виключеним" сайтом N-глікозилювання. Усі чотири мутанти мали характеристики, подібні до характеристик зв'язувального агента 9D11 дикого типу

Клон	Мутація	Вихід [мг/л]	Мономер [%]	Температура агрегації
9D11	T102N	1,34	97	56°
9D11	T102A	1,29	100	56°
9D11	N100Q	2,5	100	56°
9D11	N100S	2,05	100	56°
9D11	-	2,6	100	57°

Створювали варіанти з наступними мутаціями: N100S (N95S); N100Q (N95Q), T102A (T97A) і T102N (T97N) (у дужках вказані положення згідно з нумерацією за Кеботом) і конвертували у формат біспецифічної молекули, що активує Т-клітину. Після короткочасного одержання в клітинах HEK293 EBNA і очищення різні варіанти аналізували відносно зв'язування з мішенню й цитолітичної активності в порівнянні з вихідним клоном 9D11.

Таблиця 17: Праймери, що застосовувалися для видалення сайту N-глікозилювання в CDR L3 клону 9D11 (послідовності представлені нижче)

№	Амінокислотна заміна	Праймер для мутагенезу
1	N95S	GAB-7735
2	N95Q	GAB-7734
3	T97A	GAB7736
4	T97N	GAB-7737

Приклад 18

Зв'язування й опосередковуваний Т-клітинами цитоліз при використанні a-glyco-варіантів 9D11

Оскільки в CDR присутній сайт глікозилювання, то створювали чотири різні варіанти 9D11 з видаленням за допомогою мутації сайтом глікозилювання (приклад 17). Ці чотири варіанти тестували в порівнянні з вихідним 9D11 відносно зв'язування з FolR1 на клітинах HeLa (фіг. 10) і

індукції цитолізу пухлинних клітин SKOV3 і HT-29 (фіг. 11А-Б, Д-Е). Ні для одного із вказаних варіантів не було виявлено відмінностей у зв'язуванні або індукції цитолізу пухлинних клітин. Паралельно аналізували неспецифічний цитоліз FolR1-негативних клітин лінії MKN-45 (фіг. 11В-Г). При цьому також не було виявлено відмінностей між варіантами й вихідним зв'язувальним агентом. Жодна з конструкцій не індукувала неспецифічний цитоліз FolR1-негативних пухлинних клітин.

Приклад 19

Експресія FolR1 на первинних епітеліальних клітинах

Первинні епітеліальні клітини характеризуються низькими рівнями експресії FolR1. При створенні винаходу виявилось бажаним протестувати, чи є ці рівні достатніми для індукції опосередкованого Т-клітинами цитолізу в присутності FolR1-ТСВ. Для цього тестування використовували первинні людські бронхіальні епітеліальні клітини, первинні людські епітеліальні клітини хоріоїдального сплетення, первинні людські клітини кортикального ниркового епітелію й первинні людські клітини ретинального пігментного епітелію. Як позитивний контроль застосовували FolR1-позитивні клітини або лінії SKOV3, або лінії HT-29. Спочатку перевіряли наявність експресії FolR1 на застосовуваних первинних клітинах і визначали кількість сайтів зв'язування FolR1 на цих клітинах. Бронхіальні епітеліальні клітини, клітини кортикального ниркового епітелію й клітини ретинального пігментного епітелію характеризуються дуже низькими, але значимими рівнями експресії FolR1 у порівнянні з рівнями, експресованими на пухлинних клітинах. Епітеліальні клітини хоріоїдального сплетення не експресують значимі рівні FolR1.

Таблиця 18: Сайти зв'язування FolR1 на первинних епітеліальних клітинах

Лінія клітин	Сайти зв'язування
бронхіальний епітелій	492
епітелій хоріоїдального сплетення	104
кортикальний нирковий епітелій	312
ретинальний пігментний епітелій	822
SKOV3	69890

Первинні епітеліальні клітини, що характеризуються експресією FolR1 на поверхні, використовували для розв'язку питання про те, чи можуть вказані клітини зазнати цитолізу Т-клітинами в присутності FolR1-ТСВ. Не було виявлено значимих рівнів цитолізу, але була виявлена індукція активації Т-клітин у присутності клітин ретинального пігментного епітелію, бронхіальних епітеліальних клітин і клітин кортикального ниркового епітелію, що приводить до підвищувальної регуляції CD25 і CD69. Найбільш сильна активація була виявлена у випадку клітин ретинального пігментного епітелію, вона приводила до підвищувальної регуляції CD25 і CD69 як на CD4⁺-Т-клітинах, так і на CD8⁺-Т-клітинах. У присутності бронхіальних епітеліальних клітин індукувалась більш низька активація Т-клітин, що супроводжується підвищувальною регуляцією CD69 на CD4⁺-Т-клітинах і CD8⁺-Т-клітинах, але дуже низькою підвищувальною регуляцією CD25, яка мала місце тільки на CD4⁺-Т-клітинах, але не на CD8⁺-Т-клітинах. Найменша активація Т-клітин була виявлена в присутності клітин ниркового епітелію, у цьому випадку підвищувальна регуляція CD25 на CD4⁺-Т-клітинах і CD8⁺-Т-клітинах не мала місця, а підвищувальна регуляція CD69 мала місце тільки на CD8⁺-Т-клітинах (фіг. 12А-Ш).

Приклад 20

Порівняння різних форматів ТСВ, що містять або зв'язувальний агент 16D5, або зв'язувальний агент 9D11

Для визначення того, чи є формат ТСВ "2+1 інвертована" найбільш активним форматом при використанні відібраного FolR1-зв'язувального агента, створювали молекули, що містять 16D5 або 9D11, в різних форматах і проводили порівняння відносно зв'язування із клітинами-мішенями, опосередкованого Т-клітинами цитолізу й активації Т-клітин. Зв'язувальний агент 16D5 тестували у форматах "ТСВ 2+1 інвертована" (фіг. 1А), "ТСВ 2+1 класична" (фіг. 1Г), "ТСВ 1+1 класична" (фіг. 1В) і "ТСВ 1+1 "голова-до хвоста"» (фіг. 1Б); зв'язувальний агент 9D11 тестували у форматах "ТСВ 2+1 інвертована" (фіг. 1А), "ТСВ 1+1 класична" (фіг. 1В) і "ТСВ 1+1 "голова-до хвоста"» (фіг. 1Б).

Усі конструкції тестували відносно зв'язування з FolR1 на клітинах HeLa. Двовалентні відносно зв'язування з FolR1 молекули внаслідок авідності характеризувалися більш сильним зв'язуванням у порівнянні з одновалентними конструкціями. Відмінність між двовалентними й одновалентними конструкціями було більш вираженим у випадку 16D5. Причина може полягати в тому, що внаслідок більш низької афінності 16D5 ефект авідності для даного зв'язувального

агента виявився більш сильним. Між двома форматами "TCB 1+1" не було виявлено значимої відмінності у зв'язуванні, але була виявлена відмінність між двома конструкціями у форматі "2+1". Конструкція "2+1 інвертована" зв'язувалася з FolR1 більш сильно, ніж конструкція "2+1 класична". Це свідчить про те, що в конструкції "2+1 класична" на зв'язування з FolR1 впливає присутність Fab до CD3, у той час як в інвертованій конструкції цей вплив на зв'язування є менш сильним.

Шляхом аналізу опосередкованого Т-клітинами цитолізу в присутності вказаних конструкцій виявилось можливим продемонструвати, що більш сильне зв'язування конструкції "TCB 2+1 інвертована" супроводжується більш вираженим цитолізмом пухлинних клітин і активацією Т-клітин у порівнянні з конструкцією "TCB 2+1 класична". Зв'язувальна FolR1 молекула 16D5 у форматі "TCB 2+1 класична" мала лише трохи більшу активність, ніж відповідна конструкція "1+1 "голова-до хвоста»". Конструкція "1+1 "голова-до хвоста»" мала значимо більшу активність, ніж конструкція "1+1 класична". Це не корелює з результатами аналізу зв'язування й може бути обумовлене більш вираженим перехресним зшиванням з конструкцією у форматі "голова-до хвоста". У цілому рівень цитолізу пухлинних клітин і активації Т-клітин був порівняним для всіх протестованих конструкцій, відмінності в рівнях проявлялися тільки у величинах EC₅₀. У цілому можна зробити висновок про те, що формат зв'язувальної FolR1 молекули "TCB 2+1 інвертована" незалежно від застосовуваного зв'язувального агента є переважним форматом з погляду індукції опосередкованого Т-клітинами цитолізу пухлинних клітин і активації Т-клітин (див. фіг. 13А-В і фіг. 14А-В).

Таблиця 19. Величини EC₅₀, що характеризують зв'язування із клітинами-мішенями й опосередкований Т-клітинами цитоліз, для різних форматів TCB

Конструкція	Зв'язування, EC ₅₀ (нМ)	Цитоліз, 24 год. (пМ)	Цитоліз, 48 год. (пМ)
FolR1-TCB "2+1 інвертована" 16D5	11,03	1,43	0,18
FolR1-TCB "2+1 класична" 16D5	17,07	5,60	2,18
FolR1-TCB "1+1 класична" 16D5	107,3	n.d.	n.d.
FolR1-TCB "1+1 "голова-до хвоста»" 16D5	102,6	26,24	6,06
FolR1-TCB "2+1 інвертована" 9D11	17,52	0,74	0,14
FolR1-TCB "1+1 класична" 9D11	38,57	20,92	n.d.
FolR1-TCB "1+1 "голова-до хвоста»" 9D11	44,20	4,73	n.d.

Таблиця 20. Величини EC₅₀, що характеризують активацію Т-клітин у присутності клітин SKOV3, для різних форматів TCB

Конструкція	CD4 ⁺ CD25 ⁺ (%)	CD4 ⁺ CD69 ⁺ (%)	CD8 ⁺ CD25 ⁺ (%)	CD8 ⁺ CD69 ⁺ (%)
FolR1-TCB "2+1 інвертована" 16D5	1,96	0,33	2,10	n.d.
FolR1-TCB "2+1 класична" 16D5	13,83	3,67	12,88	4,47
FolR1-TCB "1+1 класична" 16D5	38,54	n.d.	n.d.	n.d.
FolR1-TCB "1+1 "голова-до хвоста»" 16D5	17,14	7,47	25,15	n.d.
FolR1-TCB "2+1 інвертована" 9D11	1,41	0,27	1,24	0,35
FolR1-TCB "1+1 класична" 9D11	34,01	n.d.	34,39	7,40
FolR1-TCB "1+1 "голова-до хвоста»" 9D11	3,73	2,47	4,98	2,89

Приклад 21

Лінії пухлинних клітин і первинні клітини

Клітини HeLa (CCL-2) одержували з ATCC і культивували в середовищі DMEM з 10 % FCS і 2 мМ глутаміном, клітини SKOV3 (HTB-77) одержували з ATCC і культивували в середовищі RPMI з 10 % FCS і 2 мМ глутаміном, клітини OVCAR5 одержували з NCI і культивували в середовищі RPMI з 10 % FCS і 2 мМ глутаміном, клітини HT-29 (ACC-299) одержували з DSMZ і культивували в середовищі Маккоя (McCoy) 5A з 10 % FCS і 2 мМ глутаміном, клітини MKN-45 (ACC-409) одержували з DSMZ і культивували в середовищі RPMI з 10 % FCS і 2 мМ глутаміном.

Усі тестовані первинні епітеліальні клітини одержували від фірми ScienCell Research Laboratories. Людські бронхіальні епітеліальні клітини (HBEpC, каталожний номер 3210) культивували в середовищі для бронхіальних епітеліальних клітин (BEpCM, каталожний номер 3211, фірма ScienCell). Людські епітеліальні клітини ободової кишки (HCoEpC, каталожний номер 2950) культивували в середовищі для епітеліальних клітин ободової кишки (CoEpCM,

каталожний номер 2951, фірма ScienCell). Людські клітини ретинального пігментного епітелію (HRCPEiC, каталожний номер 6540) культивували в середовищі для епітеліальних клітин (EpiCM, каталожний номер 4101, фірма ScienCell). Людські клітини кортикального ниркового епітелію (HRCPEiC, каталожний номер 4110) культивували в середовищі для епітеліальних клітин (EpiCM, каталожний номер 4101, фірма ScienCell). Людські епітеліальні клітини хоріоїдального сплетення (HRCPEiC, каталожний номер 1310) культивували в середовищі для епітеліальних клітин (EpiCM, каталожний номер 4101, фірма ScienCell).

Приклад 22

Аналіз зв'язування з мішенню за допомогою проточної цитометрії

Вказані клітини-мішені збирали з використанням буфера для дисоціації клітин, промивали 3ФР і ресуспендували в FACS-буфері. Фарбування антитіл здійснювали в 96-лунковому круглодонному планшеті. Для цього висівали по 200000 клітин на лунку. Планшет центрифугували протягом 4 хв при 400 × g і видаляли супернатант. Тестовані антитіла розводили в FACS-буфері й до клітин додавали по 20 мкл розчину антитіла протягом 30 хв при 4 °С. Для видалення незв'язаного антитіла клітини промивали двічі FACS-буфером перед додаванням розведеного вторинного антитіла (кон'югованого з ФІТЦ F(ab')₂-фрагмента козячого антилюдського IgG, Fcg-фрагмент-специфічного, AffiniPure, фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-096-098, або кон'югованого з PE F(ab')₂-фрагмента козячого антилюдського IgG, Fcg-фрагмент-специфічного, AffiniPure, фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-116-170). Після інкубації протягом 30 хв при 4 °С відмивали незв'язане вторинне антитіло. Перед вимірюванням клітини ресуспендували в 200 мкл FACS-буфера й аналізували за допомогою проточної цитометрії з використанням обладнання BD Canto II або BD Fortessa.

Приклад 23

Інтерналізація

Клітини збирали й оцінювали їх життєздатність. Клітини ресуспендували у свіжому холодному середовищі до 2 млн клітин/мл і для кожного антитіла суспензію клітин переносили у фальконівську пробірку місткістю 15 мл. Антитіла, що підлягають тестуванню у відношенні інтерналізації, додавали до клітин у кінцевій концентрації 20 мкг/мл. Пробірки інкубували протягом 45 хв у холодній кімнаті на шейкері. Після інкубації клітини тричі промивали холодним 3ФР для видалення незв'язаних антитіл. Переносили по 0,2 млн клітин/лунку в планшет для FACS, цей момент часу ухвалювали за 0. Мічені клітини ресуспендували в теплому середовищі й інкубували при 37 °С. У вказані моменти часу переносили по 0,2 млн клітин/лунку в холодний 3ФР, промивали й висівали на планшет для FACS. Для виявлення конструкцій, які залишилися на поверхні, клітини фарбували міченим PE вторинним антитілом до людського Fc. Для цього додавали по 20 мкл розведеного антитіла/лунку й планшет інкубували протягом 30 хв при 4 °С. Потім клітини двічі промивали для видалення незв'язаних антитіл і після цього фіксували за допомогою 1 % ПФА для попередження якої-небудь подальшої інтерналізації. Флуоресценцію вимірювали за допомогою обладнання BD FACS Cantoll.

Приклад 24

Аналіз із використанням набору QIFIKIT®

Набір QIFIKIT® містить гранули діаметром 10 мкм, покриті різними, але строго визначеними кількостями молекул мишиного МАт (що має високу афінність до людського CD5, клон CRIS-1, ізотип IgG2a). Гранули імітують клітини з різними щільностями антигену, мічені первинним мишиним МАт ізотипу IgG. У цілому метод полягав у наступному. Клітини мітили первинним мишиним моноклональним антитілом до антигену, що представляє інтерес. В окремій тест-лунці клітини мітили нерелевантним мишиним моноклональним антитілом (контроль ізотипу). Потім клітини, "настроєні" гранули Set-Up і калібровані гранули мітили кон'югованим із флуоресцеїном вторинним антимишиним антитілом, включеним у набір. Первинне антитіло, застосовуване для мічення клітин, слід використовувати в насичуючій концентрації. Первинне антитіло може представляти собою будь-яке мишине антитіло ізотипу IgG. У цих умовах кількість зв'язаних молекул первинного антитіла відповідає кількості антигенних сайтів, що присутні на клітинній поверхні. Вторинне антитіло застосовували також в насичуючій концентрації. Після цього встановлювали кореляцію флуоресценції з кількістю зв'язаних молекул первинного антитіла на клітинах і на гранулах.

Приклад 25

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз пухлинних клітин і активація Т-клітин

Клітини-мішені збирали з використанням трипсину/ЕДТА, підраховували й оцінювали життєздатність. Клітини ресуспендували у відповідному для них середовищі до кінцевої концентрації 300000 клітин/мл. Потім переносили по 100 мкл суспензії клітин-мішеней у кожну

лунку 96-лункового плоскодонного планшета. Планшет інкубували протягом ночі при 37 °C в інкубаторі для того, щоб дати клітинам прикріпитися до планшета. Наступного дня виділяли PBMC із цільної крові здорових донорів. Кров розводили 3ФР у співвідношенні 2:1 і нашаровували на 15 мл Histopaque-1077 (каталожний номер 10771, фірма Sigma-Aldrich) у пробірках Leucosep і центрифугували протягом 30 хв при 450 × g без перерви. Після центрифугування збирали смугу, що містить клітини, за допомогою піпетки місткістю 10 мл і переносили в пробірки місткістю 50 мл. Пробірки заповнювали 3ФР до об'єму 50 мл і центрифугували (400 × g, 10 хв, кімнатна температура). Супернатант видаляли й дебрис ресуспендували в 3ФР. Після центрифугування (300 × g, 10 хв, кімнатна температура), супернатанти відкидали, об'єднували вміст двох пробірок і повторювали стадію промивання (у цьому випадку центрифугували при 350 × g, 10 хв, кімнатна температура). Після цього клітини ресуспендували й об'єднували дебриси в 50 мл 3ФР для підрахунку клітин. Після підрахунку клітини центрифугували (350 × g, 10 хв, кімнатна температура) і ресуспендували з розрахунку 6 млн клітин/мл у середовищі RPMI, що містить 2 % FCS і 2нМ глутамін. Середовище видаляли з висіяних клітин-мішеней і додавали тестовані антитіла, розведені в середовищі RPMI, що містить 2 % FCS і 2нМ глутамін. У кожному лунку переносили розчин ефекторних клітин, що містить 300000 клітин, що забезпечувало співвідношення Е:Т=10:1. Для визначення максимального вивільнення клітини-мішені лізували Тритоном Х-100. Вивільнення ЛДГ визначали через 24 год. і 48 год. з використанням набору для виявлення цитотоксичності (каталожний номер 1644793, фірма Roche Applied Science). Підвищувальну регуляцію маркера активації на Т-клітинах після цитолізу пухлинних клітин вимірювали за допомогою проточної цитометрії. У цілому метод полягав у наступному. PBMC збирали, переносили в 96-лунковий круглодонний планшет і фарбували за допомогою антитіл до CD4-PE-Cy7 (каталожний номер 3557852, фірма BD Bioscience), до CD8-ФІТЦ (каталожний номер 555634, BD Bioscience), до CD25-APC (каталожний номер 555434, фірма BD Bioscience), до CD69-PE (каталожний номер 310906, фірма BioLegend), розведених в FACS-буфері. Після інкубації протягом 30 хв при 4 °C клітини двічі промивали FACS-буфером. Перед вимірюванням флуоресценції за допомогою BD Canto II клітини ресуспендували в 200 мкл FACS-буфером.

Приклад 26

Активация Т-клітин у цільній крові

Додавали 280 мкл свіжої крові в 96-лунковий планшет із глибокими конічними лунками. Потім до крові додавали 20 мкл розведених ТСВ і добре перемішували шляхом струшування планшета. Після інкубації протягом 24 год. при 37 °C в інкубаторі кров перемішували й переносили 35 мкл в 96-лунковий круглодонний планшет. Потім додавали 20 мкл суміші для фарбування антитіл, яка складається з антитіл до CD4-PE-Cy7 (каталожний номер 3557852, фірма BD Bioscience), до CD8-ФІТЦ (каталожний номер 555634, фірма BD Bioscience), до CD25-APC (каталожний номер 555434, фірма BD Bioscience), до CD69-PE (каталожний номер 310906, фірма BioLegend) і до CD45-V500 (каталожний номер 560777, фірма BD Horizon), і інкубували протягом 15 хв у темряві при кімнатній температурі. Перед вимірюванням до крові додавали 200 мкл свіжо приготовленого розчину для лізису BD FACS (каталожний номер 349202, фірма BD FCAS). Після інкубації протягом 15 хв при кімнатній температурі клітини аналізували за допомогою обладнання BD Fortessa.

Приклад 27

Дослідження SDPK (одноразове фармакокінетичне дослідження) гуманізованої FOLR1-ТСВ (клон 16D5) на мишах лінії NOD/Shi-scid/IL-2R γ null (NOG) з імунodefіцитом

Самок мишей лінії NOD/Shi-scid/IL-2R γ null (NOG) віком 6-7 тижнів при початку експерименту (вирощених на фірмі Taconic, Данія) утримували в умовах, вільних від специфічних патогенів, при добових циклах 12 год. світла/12 год. темряви згідно із відповідним посібником (Gv-Solas; Felasa; TierschG). Протокол експериментального дослідження був розглянутий і схвалений місцевим урядовим органом (Р 2011/128). Після доставки тварин витримували протягом 1 тижня для того, щоб вони могли звикнути до нових умов, і для обстеження. На регулярній основі здійснювали постійний моніторинг стану здоров'я.

Мишам вводили шляхом i.v.-ін'єкції в дозі 10, 1 або 0,1 мкг/мишу FOLR1-ТСВ, при цьому в кожній групі й у кожний момент часу брали кров в 3 мишей. Усім мишам вводили шляхом ін'єкції відповідний розчин у загальному об'ємі 200 мкл. Для одержання потрібної кількості FOLR1-ТСВ на 200 мкл маточні розчини при необхідності розводили 3ФР. Зразки сироватки брали через 5 хв, 1 год., 3 год., 8 год., 24 год., 48 год., 72 год., 96 год. і 168 год. після ін'єкції терапевтичного засобу.

На фіг. 15 продемонстровано, що FOLR1-ТСВ 16D5 мала типові й пропорційні дозі ФК-характеристиками в організмі NOG-мишей, подібними з характеристиками IgG, з повільним

кліренсом.

Таблиця 21: Умови експерименту

З'єднання	Доза	Буфер для композиції	Концентрація (мг/мл)
FOLR1-TCB (16D5)	10 мг (відповідає приблизно. 0,5 мг/кг)	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	5,43 (= маточний розчин)
FOLR1-TCB (16D5)	1 мг (відповідає приблизно. 0,05 мг/кг)	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	5,43 (=маточний розчин)
FOLR1-TCB (16D5)	0,1 мг (відповідає приблизно. 0,005 мг/кг)	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	5,43 (=маточний розчин)

5 Приклад 28

Ефективність *in vivo* FOLR1-TCB (клон 16D5) після переносу людських PBMC у NOG-мишей, що несуть SKOV3

FOLR1-TCB тестували з використанням клітин людської лінії карциноми яєчника SKOV3, які ін'єкували *s.c.* NOG-мишам із трансплантованими PBMC.

10 Клітини карциноми яєчника SKOV3 одержували з ATCC (HTB-77). Лінію пухлинних клітин культивували в середовищі RPMI, що містить 10 % FCS (фірма Gibco) при 37 °C у насиченій водянню парою атмосфері, що містить 5 % CO₂. Для трансплантації використовували пасаж 35 з життєздатністю > 95 %. 5×10⁶ клітин/тварину вводили шляхом *s.c.*-ін'єкції в правий бік тварин у загальному об'ємі 100 мкл середовища для клітинної культури RPMI (фірма Gibco).

15 Самок мишей лінії NOD/Shi-scid/IL-2R^γnull (NOG) віком 6-7 тижнів при початку експерименту (вирощених на фірмі Taconic, Данія) утримували в умовах, вільних від специфічних патогенів, при добових циклах 12 год. світла/12 год. темряви згідно із відповідним посібником (Gv-Solas; Felasa; TierschG). Протокол експериментального дослідження був розглянутий і схвалений місцевим урядовим органом (P 2011/128). Після доставки тварин витримували протягом 1 тижня для того, щоб вони могли звикнути до нових умов, і для обстеження. На регулярній основі здійснювали постійний моніторинг стану здоров'я.

20 Відповідно до протоколу (фіг. 16), мишам вводили шляхом *s.c.*-ін'єкції в день досліду 0 5×10⁶ клітин лінії Skov 3. У день досліду 21 виділяли людські PBMC здорового донора за допомогою методу з використанням Ficoll і вводили 10×10⁶ клітин шляхом *i.p.*-ін'єкції мишам, що мають пухлину. Через два дні мишей рандомізували й рівномірно розділяли на п'ять груп обробки (n=12), після чого вводили шляхом *i.v.* ін'єкції один раз у тиждень протягом трьох тижнів по 10, 1 або 0,1 мкг/мишу FOLR1-TCB або контрольну TCB DP47 у дозі 10 мкг/мишу. Усім мишам вводили шляхом *i.v.*-ін'єкції відповідний розчин в об'ємі 200 мкл. Мишам у групі, оброблюваній наповнювачем, ін'єкували 3ФР. Для одержання потрібної кількості TCB на 200 мкл маточні розчини при необхідності розводили 3ФР. Ріст пухлини оцінювали один раз у тиждень шляхом вимірювання за допомогою кронциркуля (фіг. 17) і об'єм пухлини розраховували по наступній формулі:

$Tv: (W^2/2) \times L$ (W: ширина, L: довжина)

35 Введення FOLR1-TCB шляхом ін'єкції один раз у тиждень приводило до залежного від дози протипухлинної дії. При цьому дози, що становлять 10 мкг/мишу й 1 мкг/мишу, індукували скорочення пухлини, а доза 0,1 мкг/мишу приводила до стазу пухлини (фіг. 17, таблиця 22). Максимальне скорочення пухлини в порівнянні із введенням ненаціленої контрольної TCB DP47 досягалося при введенні дози 10 мкг/мишу.

Таблиця 22: Ефективність *in vivo*

40

З'єднання	доза	Інгібування росту пухлини
контрольна TCB: TCB DP47	10 мг (відповідає приблизно 0,5 мг/кг)	7 %
FOLR1-TCB (16D5)	10 мг (відповідає приблизно 0,5 мг/кг)	90 %
FOLR1-TCB (16D5)	1 мг (відповідає приблизно 0,05 мг/кг)	74 %
FOLR1-TCB (16D5)	0,1 мг (відповідає приблизно 0,005 мг/кг)	56 %

45 Для одержання даних про ФК умертвляли в день 32 по три миші на групу обробки, вилучали пухлини й готували суспензію одиничних клітин за допомогою ферментативного розщеплення колагеназою V, диспазою II і ДНКазою для наступного FACS-аналізу (фіг. 19 і 20). Одиничні клітини використовували або безпосередньо для фарбування позаклітинних антигенів і маркерів активації, або їх повторно стимулювали з використанням 5 нг/мл ФМА й 500 нг/мл

іономіцину в присутності інгібітора транспорту білка монензину протягом 5 год. у нормальному культуральному середовищі. Після повторної стимуляції клітини фарбували для виявлення поверхневих антигенів, після чого здійснювали стадію фіксації й пермеалізації. Здійснювали внутрішньоклітинне фарбування фіксованих зразків для виявлення TNF- α , IFN- γ , IL-10 і IL-2 і проводили аналіз за допомогою проточної цитометрії. Таку ж процедуру проводили для оцінки дегрануляції клітин, але в період повторної стимуляції додавали антитіло до CD107a і фіксовані зразки фарбували для виявлення вмісту внутрішньоклітинного перфоруину й гранзиму-B. FACS-аналіз виявив наявність статистично значимої більш високої кількості інфільтруючих CD4⁺- і CD8⁺-Т-клітин у пухлинній тканині після обробки FOLR1-TCB у порівнянні з обробкою наповнювачем і ненаціленою контрольною TCB. Крім того в оброблених FOLR1-TCB пухлинах були виявлені більші кількості продукуючих TNF- α , IFN- γ і IL-2, а також перфорин+/гранзим-B+CD4⁺- і CD8⁺-Т-клітин. Інфільтруючі пухлину Т-клітини, оброблені FOLR1-TCB, характеризувалися також більш високими рівнями дегрануляції в порівнянні з контрольними групами.

У день 38 закінчення дослідів усіх тварин умертвляли, вилучали пухлини й зважували (фіг. 18). Маса пухлин, оброблених дозами FOLR1-TCB, що становили 10 і 1 мкг/мишу, статистично значимо відрізнялися від маси пухлин у контрольних групах.

Таблиця 23: Умови експерименту

З'єднання	Доза	Буфер для препарату	Концентрація (мг/мл)
ЗФР			
FOLR1-TCB (16D5)	10 мкг	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	3,88 (= маточний розчин)
FOLR1-TCB (16D5)	1 мкг	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	3,88 (=маточний розчин)
FOLR1-TCB (16D5)	0,1 мкг	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	3,88 (=маточний розчин)
TCB DP47	10 мкг	20 мМ гістидин, 140 мМ NaCl, pH 6,0	4,35 (=маточний розчин)

Приклад 29

Створення біспецифічного антитіла до FolR1/CD3-капа-лямбда

Для створення біспецифічного антитіла (одновалентного відносно кожного антигену), яке може одночасно зв'язуватися з людським CD3 і людським фолатним рецептором альфа (FolR1), без застосування якого-небудь заснованого на гетеродимеризації підходу (наприклад, технології "knob-into-hole"), застосовували комбінацію підходу, заснованого на використанні бібліотеки загальних легких ланцюгів і так званої технології CrossMab: варіабельну ділянку гуманізованого CD3-зв'язувального агента (CH2527_VL7_46/13) зливали з CH1-доменом стандартного людського антитіла у вигляді IgG1 з утворенням молекули зі схрещеними VLVH (зливої з Fc), що є загальною для обох специфічностей. Для створення схрещених копій (VHCL), CD3-специфічний домен варіабельного важкого ланцюга (CH2527_VH_23/12) зливали з константним людським легким λ -ланцюгом, у той час як домен варіабельного важкого ланцюга, специфічний у відношенні людського FolR1 (клон 16D5, виділений з бібліотеки загальних легких ланцюгів), зливали з константною людською легкою κ -ланцюгом. Це дозволяло здійснювати очищення необхідного біспецифічного антитіла шляхом застосування наступних стадій очищення з використанням колонок з KappaSelect і LambdaFabSelect (фірма GE Healthcare) для видалення небажаних гомодимерних антитіл.

Усі експресійні вектори для антитіл створювали із застосуванням стандартної технології рекомбінантної ДНК, описаної в Sambrook, J. і ін., Molecular cloning: A laboratory manual; вид-во Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Реагенти для молекулярної біології застосовували згідно з рекомендаціями виробника. Гени або фрагменти генів або ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), або створювали із синтетичних олігонуклеотидів на фірмі Geneart AG (Регенсбург, Німеччина) за допомогою автоматичного синтезу генів. Ампліфікуванні за допомогою ПЛР або субклоновані ДНК-фрагменти підтверджували секвенуванням ДНК (фірма Synergene GmbH, Швейцарія). Плазмідною ДНК трансформували придатні штами-хазяїна E. coli і ампліфікували в них для одержання плазмідної ДНК із придатного для трансфекції ступенем чистоти з використанням стандартних наборів Maxiprep (фірма Qiagen). Для одержання біспецифічних молекул клітини НЕК293 EBNA трансфектували плазмідами, що кодують відповідні гени, за допомогою стандартного методу, заснованого на застосуванні поліетиленіміну (PEI). Застосовували

співвідношення плазмід для трьох експресійних векторів, рівне 1:1:1. Трансфектовані клітини культивували протягом 7 днів, після чого збирали супернатанти для очищення. Біспецифічні антитіла FoIR1/CD3-капа-лямбда одержували й очищали в такий спосіб.

Короткочасна трансфекція й одержання

Біспецифічні капа-лямбда-антитіло короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA за допомогою процедури опосередкованої ПЕІ трансфекції з використанням відповідних векторів відповідно до описаного нижче методу. Клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в середовищі CD CHO. Для виробництва в струшувану колбу місткістю 500 мл висівали за 24 год. до трансфекції 400 млн клітин HEK293 EBNA (для інших масштабів виробництва всі кількості регулювали відповідним чином). Для здійснення трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при $210 \times g$, супернатант заміняли на 20 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO до одержання кінцевої кількості ДНК 200 мкг. Після додавання 540 мкл ПЕІ розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і потім інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/ПЕІ, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37°C в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO_2 . Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення центрифугуванням протягом 15 хв при $210 \times g$, розчин стерилізували фільтрацією (0,22 мкМ-фільтр), додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.) і витримували при 4°C .

2. Очищення

Здійснювали тристадійне очищення біспецифічного капа-лямбда-антитіла, застосовуючи стадію афінного очищення, специфічну у відношенні легких капа-ланцюгів, потім стадію афінної очищення специфічну у відношенні легких лямбда-ланцюгів і, нарешті, стадію гель-фільтрації для видалення агрегатів. Значення рН супернатанта, отриманого в результаті короткочасного виробництва, доводили до рН 8,0 (з використанням 2М Трис, рН 8,0) і вносили в колонку з матриксом, що має афінність до капа-ланцюга Capture Select, (Capture Select kappa affinity matrix) або HiTrap KappaSelect, фірма GE Healthcare, об'єм колонки (cv) = 1 мл, урівноважену буфером А, узятому в об'ємі, що дорівнює 5 об'ємам колонки (cv) (50 мМ Трис, 100 мМ гліцин, 150 мМ NaCl, рН 8,0). Після промивання за допомогою 15 cv буфера А білок елюювали з використанням градієнта рН до буфера Б (50 мМ Трис, 100 мМ гліцин, 150 мМ NaCl, рН 2,0) в обсязі 25 cv. Фракції, які містять білок, що представляє інтерес, об'єднували й значення рН розчину доводили до рН 8,0 (з використанням 2М Трис, рН 8,0). Нейтралізовані об'єднані фракції вносили в колонку з матриксом Capture Select, що має афінність до лямбда-ланцюга (у цьому випадку: HiTrap LambdaFabSelect, фірма GE Healthcare, об'єм колонки (cv)=1 мл), урівноважену буфером А, узятим в об'ємі, що дорівнює 5 об'ємам колонки (cv) ((50 мМ Трис, 100 мМ гліцин, 150 мМ NaCl, рН 8,0). Після промивання за допомогою 15 cv буфера А білок елюювали з використанням градієнта рН до буфера Б (50 мМ Трис, 100 мМ гліцин, 150 мМ NaCl, рН 2,0) в об'ємі 25 cv. Фракції, які містять білок, що представляє інтерес, об'єднували й значення рН розчину доводили до рН 8,0 (з використанням 2М Трис, рН 8,0). Цей розчин концентрували з використанням ультра-концентраторів (Vivaspin 15R 30.000 MWCO NY, фірма Sartorius) і потім вносили в колонку Superdex™ 200 10/300 GL (фірма GE Healthcare), урівноважену 20 мМ гістидином, рН 6,0, 140 мМ NaCl, 0,01 % Твін-20. Після гель-фільтрації об'єднані фракції знову концентрували з використанням ультра-концентраторів (Vivaspin 15R 30.000 MWCO NY, фірма Sartorius).

Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструкцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом або без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Виявилось можливим очистити лише дуже малі кількості білка, кінцевий вихід становив 0,17 мг/л.

Приклад 30

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз у присутності біспецифічного капа-лямбда-антитіла до FoIR1/CD3

Активність капа-лямбда-FoIR1-TCB тестували на клітинах SKOV3 у присутності свіжо виділених РВМС. Як негативний контроль застосовували ТCB DP47. Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин SKOV3 оцінювали через 24 год. і 48 год. за вивільненням ЛДГ. Через 48 год. Т-клітини збирали й вимірювали підвищувальну регуляцію CD69 і CD25 на CD4-Т-клітинах і CD8-Т-клітинах за допомогою проточної цитометрії.

Зв'язувальна FolR1 капа-лямбда-конструкція індукувала залежний від концентрації цитоліз клітин SKOV3, який супроводжувався підвищувальною регуляцією CD69 і CD25 як на CD4-T-клітинах, так і CD8-T-клітинах.

Клітини SKOV3 інкубували з PBMC у присутності або капа-лямбда-FolR1-TCB, або TCB DP47. Через 24 год. і 48 год. оцінювали цитоліз пухлинних клітин шляхом вимірювання вивільнення ЛДГ (фіг. 21). Клітини SKOV3 інкубували з PBMC у присутності або капа-лямбда-FolR1-TCB, або TCB DP47. Через 48 год. вимірювали підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 на CD4-T-клітинах і на CD8-T-клітинах за допомогою проточної цитометрії (фіг. 22).

Приклад 31

Біохімічна характеристика FolR1-зв'язувальних агентів 16D5 і 36F2 за допомогою поверхневого плазмонного резонансу

Зв'язування анти-FolR1 16D5 у різних одновалентних або двовалентних біспецифічних форматах, що активують T-клітину, і анти-FolR1 36F2 у вигляді IgG або у вигляді біспецифічної молекули, що активує T-клітину з рекомбінантним фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (усі у вигляді злиттів з Fc) оцінювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR). Усі SPR-експерименти здійснювали на обладнанні BIAcore T200 при 25 °C з використанням HBS-EP як рухомий буфер (0,01M HEPES, pH 7,4, 0,15M NaCl, 3мМ ЕДТА, 0,005 % сурфактант P20, фірма BIAcore, GE Healthcare).

Тестовані молекули

Застосовували для оцінки афінності й авідності, описано в таблиці 24.

Таблиця 24: Позначення й опис 6 конструкцій, що застосовувалися в SPR-аналізі

Позначення	Опис
TCB 16D5	формат "2+1 біспецифічний, інвертований, що активує T-клітину (загальний легкий ланцюг)»
TCB класична 16D5	формат "2+1 біспецифічний, класичний, що активує T-клітину (загальний легкий ланцюг)»
TCB 1+1 16D5	формат "1+1 біспецифічний, що активує T-клітину (загальний легкий ланцюг)»
TCB 1+1 HT 16D5	формат "1+1 біспецифічний, що активує T-клітину "голова-до хвоста" (загальний легкий ланцюг)»
IgG 36F2	людський IgG1 з мутаціями P329G LALA
IgG 36F2	формат "2+1 біспецифічний, інвертований, що активує T-клітину Crossfab»

2. Авідність до фолатного рецептора 1

Авідність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують T-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами визначали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 25).

Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (FolR1-Fc) з Sa-чіпом згідно з інструкціями за стандартною комбінацією (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації відповідав приблизно 300-400 RU. Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують T-клітини, в діапазоні концентрацій від 3,7 до 900 нМ пропускали при швидкості потоку 30 мкл/хв через проточні гнізда протягом 180 с. Моніторинг дисоціації здійснювали протягом 240 або 600 с. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу за допомогою подвійної ін'єкції 10 мМ гліцину-HCl, pH 2, протягом 30 с.

Усі відмінності в коефіцієнті заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці з іммобілізованим злиттям рекомбінантний біотинілований мишиний CD134-Fc. Криві зв'язування, отримані в результаті двовалентного зв'язування IgG або біспецифічних молекул, що активують T-клітину, апроксимували на основі моделі зв'язування за типом 1:1 Ленгмюра (навіть незважаючи на те, що в цьому випадку має місце зв'язування за типом 1:2) і підганяли до цієї моделі для одержання уявної величини K_D , що характеризує авідність двовалентного зв'язування. Уявні константи авідності, що характеризують взаємодії, одержували на основі констант швидкості, визначених у результаті припасування з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare). Для формату 1+1 біспецифічної молекули, що активує T-клітини, взаємодія дійсно здійснюється за типом 1:1 і величина K_D характеризує афінність, оскільки в такій конструкції присутній тільки один FolR1-зв'язувальний агент.

Таблиця 25: Двовалентне зв'язування (авідність, що характеризується уявною величиною K_D) анти-FolR1 16D5 і 36F2 у вигляді IgG або у вигляді біспецифічних молекул, що активують T-

клітину (TCB) з FolR1 людини, мавп циномогус і мишей

Аналіт	Ліганд	ka (1/Мс)	kd (1/с)	Уявна величина K_D
IgG 36F2	huFolR1	2,07E+06	1,3E-02	6нМ
	cyFolR1	2,78E+06	1,75E-02	6нМ
	muFolR1	4,28E+05	8,23E-04	2нМ
TCB 36F2	huFolR1	2,45E+06	9,120E-03	4нМ
	cyFolR1	4,31E+06	1,45E-02	3нМ
	muFolR1	6,97E+05	9,51E-04	1нМ
TCB 16D5	huFolR1	1,57E+05	3,92E-04	3нМ
	cyFolR1	2,01E+05	3,81E-04	2нМ
TCB 16D5 класична	huFolR1	2,04E+05	1,84E-04	0,9нМ
	cyFolR1	2,50E+05	3,05E-04	1нМ
16D5 TCB 1+1 HT	huFolR1	5,00E+04	2,25E-03	45нМ
	cyFolR1	5,75E+04	4,10E-03	70 нМ
16D5 TCB 1+1	huFolR1	3,65E+04	2,04E-03	56нМ
	cyFolR1	4,09E+04	3,60E-03	90 нМ

Афінність до фолатного рецептора 1

- 5 Афінність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами визначали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 26).

- 10 Для вимірювання афінності здійснювали безпосередню комбінацію антилюдського Fab-специфічного антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня іммобілізації, що відповідає приблизно 12000 резонансних одиниць (RU), на CM5-чипі при pH 5,0 з використанням набору для стандартного амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, в концентрації 20 нМ захоплювали при швидкості потоку 10 мкл/хв протягом 40 с, у проточній референс-комірці захоплення не здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 12,3 до 3000 нМ) злиття фолатний рецептор 1 людини, мавп циномогус або мишей з Fc при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 300 с і для запуску заміняли розчин зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу, використовуючи дві ін'єкції по 60 с із використанням 10 мМ гліцину-HCl, pH 1,5. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці 1. Константи афінності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

- 25 Таблиця 26: Одновалентне зв'язування (афінність) анти-FolR1 16D5 і 36F2 у вигляді IgG або у вигляді біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB) з FolR1 людини, мавп циномогус або мишей

Аналіт	Ліганд	ka (1/Мс)	kd (1/с)	K_D
36F2 IgG	huFolR1	9,10E+04	6,65E-02	730 нМ
	cyFolR1	1,02E+05	5,78E-02	570 нМ
	muFolR1	8,32E+04	1,78E-02	210 нМ
36F2 TCB	huFolR1	5,94E+04	6,13E-02	1000 нМ
	cyFolR1	6,29E+04	5,42E-02	860 нМ
	muFolR1	5,68E+04	1,75E-02	300 нМ
16D5 TCB	huFolR1	2,23E+04	7,33E-04	33нМ
	cyFolR1	1,57E+04	1,60E-03	100 нМ
16D5 TCB класична	huFolR1	1,03E+04	7,59E-04	74нМ
	cyFolR1	9,18E+03	1,61E-03	175нМ
16D5 TCB 1+1 HT	huFolR1	2,05E+04	7,08E-04	35нМ
	cyFolR1	1,67E+04	1,53E-03	92нМ
16D5 TCB 1+1	huFolR1	1,43E+04	9,91E-04	69нМ
	cyFolR1	1,20E+04	1,80E-03	150 нМ

Афінність (одновалентне зв'язування) TCB 36F2 зі злиттям людський FolR1-Fc і cynoFolR1-

Fc виявилася подібною й в обох випадках становила приблизно 1000 нМ, у той час як афінність до злиття мишиний FolR1-Fc була трохи вище й становила приблизно 300 нМ. 36F2 можна застосовувати для досліджень на створені на мишах і приматах моделях, при цьому не потрібно використовувати сурогатну молекулу.

5 Авідність (уявна величина K_D) TCB 36F2 до людського FolR1 виявилася приблизно в 30 менше, ніж афінність TCB 16D5 до людського FolR1. У двовалентному форматі для TCB 36F2 вона знаходилася в нижньому наномолярному діапазоні, у той час як для TCB 16D5 вона знаходилася в нижньому пікомолярному діапазоні (1000-кратна відмінність).

10 FolR1 експресується на пухлинних клітинах, у цьому випадку для нього характерна понадекспресія, проміжні й високі рівні експресії, на поверхні ракових клітин при широкому спектрі епітеліальних злоякісних захворювань, включаючи рак яєчника, молочної залози, нирок, колоректальний рак, рак легені й інші види солідних раків, а також експресується на апікальній поверхні обмеженої субпопуляції поляризованих епітеліальних клітин у здоровій тканині. Для таких неканцерогенних здорових клітин характерні лише низькі рівні експресії, до них належать, 15 наприклад, бронхіальні епітеліальні клітини на поверхні альвеол, клітини каналців кортикального шару нирки на повернутій до просвіту стороні, ретикулярний пігментний епітелій (базолатеральна мембрана) і хоріоїдальне сплетення.

20 TCB 16D5 зв'язувався із клітинами здорових тканин, що характеризуються низькими рівнями експресії FolR1, що приводило до їх цитолізу, опосередкованого Т-клітинами. Це може, принаймні частково, пояснювати обмежену толерантність, виявлену в мавп циномогус при введенні дози 10 мкг/кг. При створенні винаходу виявилось бажаним визначити, чи може зниження афінності біспецифічної молекули, що активує Т-клітини, підвищувати здатність розрізняти тканини з високою й низькою щільністю мішені й, завдяки цьому знижувати токсичність за рахунок використання двовалентного зв'язування й ефекту авідності. Звичайно 25 зв'язувальні агенти з низькою афінністю не відбирають як придатні кандидати для подальшого аналізу, оскільки низька афінність часто асоціюється з низькою активністю й ефективністю. Проте, був створений FolR1-зв'язувальний агент 36F2, що має низьку афінність у декількох форматах і були охарактеризовані його біологічні властивості. Для 36F2, застосовуваного у форматі двовалентної біспецифічної молекули, що активує Т-клітину, ефект авідності (тобто 30 різниця між одновалентним і двовалентним зв'язуванням) виявився приблизно 250-кратним (1000 нМ у порівнянні з 4 нМ). При низькій щільності мішені афінність, що визначає взаємодію й становить 1000 нМ, приводила до низької активності TCB. Однак при високій щільності мішені починає відігравати роль авідність і при величині 4 нМ вона приводила до високої активності TCB (див. приклад 32).

35 З використанням іншого підходу при створенні винаходу були сконструйовані одновалентні формати 16D5 і варіант 16D5 с низькою афінністю (афінність приблизно 10-40 нМ) у двовалентному форматі. Зв'язувальний агент 16D5, застосовуваний в одновалентному форматі (1+1), мав афінність, що становить приблизно 50 нМ. Здатність відрізняти тканини з високою від 40 тканин з низькою щільністю мішені може бути досягнута краще, якщо скористатися перевагами, які дає ефект авідності.

Приклад 32

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин SKOV-3, індукований TCB 36F2, TCB Mov19 і TCB 21A5

45 Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований TCB 36F2, TCB Mov19 і TCB 21A5, оцінювали на клітинах SKOV-3 (середній рівень FolR1). Людські PBMC використовували як ефектори, цитоліз оцінювали після інкубації протягом 24 і 48 год. у присутності біспецифічних антитіл. У цілому метод полягав у наступному. Клітини-мішені збирали з використанням трипсину/ЕДТА, промивали й висівали із щільністю 25000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети. Клітинам давали прикріпитися протягом ночі. Мононуклеарні клітини периферичної 50 крові (PBMC) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих із крові здорових донорів. Свіжу кров розводили стерильним 3ФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, H8889). Після центрифугування (450 × g, 30 хв, кімнатна температура) частину плазми, що знаходиться над інтерфазою, що містить PBMC, відкидали й PBMC переносили в нову фальконівську пробірку, 55 яку потім заповнювали 50 мл 3ФР. Суміш центрифугували (400 × g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали й дебрис PBMC відмивали двічі стерильним 3ФР (стадії центрифугування при 350 × g, 10 хв). Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції PBMC (обладнання ViCell) і зберігали в середовищі RPMI1640, що містить 10 % FCS і 1 % L-аланін-L-глутаміну (фірма Biochrom, K0302) при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі для клітин до 60 подальшого використання (не більше 24 год.). Для аналізу цитолізу антитіло додавали в

вказаних концентраціях (у діапазоні від 0,005 пМ до 5нМ у трьох повторях). Додавали РВМС до клітин-мішеней у кінцевому співвідношенні Е:Т=10:1. Цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 24 і 48 год. при 37 °С, 5 % CO₂ шляхом кількісної оцінки вивільнення ЛДГ у клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, каталожний номер 11 644 793 001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней у присутності 1 % Тритону Х-100. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без біспецифічних конструкцій.

Результати свідчать про те, що індукований 36F2 рівень цитолізу був суттєво менше, у порівнянні із цитолізом, індукованим ТСВ Mov19 і ТСВ 21A5 (фіг. 23А-Б). Дані про величини EC₅₀, отриманих в аналізах цитолізу, які розраховували з використанням програми GraphPadPrism6, узагальнено в таблиці 27.

Таблиця 27: Величини EC₅₀ (пМ) для опосередкованого Т-клітинами цитолізу Клітин SKOV-3-що експресують FolR1, індукованого ТСВ 36F2, ТСВ Mov19 і ТСВ 21A5

	EC ₅₀ [пМ]	
Антитіло	24 год.	48 год.
ТСВ 36F2	1406,07*	134,5
ТСВ Mov19	0,75	0,05
ТСВ 21A5	2,83	0,10

* крива не досягла насичення, тому наведена гіпотетична величина

Приклад 33

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований ТСВ 36F2 і ТСВ 16D5 у різних одновалентних і двовалентних форматах біспецифічної молекули, що активує Т-клітину

Оцінювали опосередковуваний Т-клітинами цитоліз людських пухлинних клітин HeLa (високий рівень FolR1, приблизно 2 млн копій, таблиця 14, фіг. 27), SKOV-3 (середній рівень FolR1, приблизно 70000-90000 копій, таблиця 14, фіг. 27) і HT-29 (низький рівень FolR1, приблизно 10000 копій, таблиця 14, фіг. 27), індукований антитілами ТСВ 36F2, ТСВ 16D5, ТСВ 16D5 у форматі "ТСВ класична", ТСВ 16D5 у форматі "ТСВ 1+1" і ТСВ 16D5 у форматі "ТСВ HT". Антитіло, що представляє собою ТСВ DP47, включали як негативний контроль. Людські РВМС застосовували як ефекторні клітини, цитоліз оцінювали після інкубації протягом 24 год. з біспецифічним антитілом. У цілому метод полягав у наступному. Клітини-мішені збирали з використанням трипсину/ЕДТА, промивали й висівали із щільністю 25000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети. Клітинам давали прикріпитися протягом ночі. Мононуклеарні клітини периферичної крові (РВМС) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих із крові здорових донорів. Свіжу кров розводили стерильним 3ФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, H8889). Після центрифугування (450 × g, 30 хв, кімнатна температура) частину плазми, що знаходиться над інтерфазою, що містить РВМС, відкидали й РВМС переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл 3ФР. Суміш центрифугували (400 × g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали й дебрис РВМС промивали двічі стерильним 3ФР (стадії центрифугування при 350 × g, 10 хв). Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції РВМС (обладнання ViCell) і зберігали в середовищі RPMI 1640, що містить 10 % FCS і 1 % L-аланін-L-глутаміну (фірма Biochrom, K0302) при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі для клітин до подальшого використання (не більше 24 год.). Для аналізу цитолізу антитіло додавали в вказаних концентраціях (у діапазоні від 0,01 пМ до 100 нМ у трьох повторях). Додавали РВМС до клітин-мішеней у кінцевому співвідношенні Е:Т=10:1. Цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 24 год. при 37 °С, 5 % CO₂ шляхом кількісної оцінки вивільнення ЛДГ у клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, каталожний номер 11 644 793 001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней у присутності 1 % Тритону Х-100. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без біспецифічних конструкцій.

Результати свідчать про те, що мішень-специфічний цитоліз усіх трьох ліній FolR1⁺-клітин-мішеней, індукований ТСВ 36F2, виявився набагато слабше, ніж цитоліз, індукований ТСВ 16D5 (на фіг. 24А-В, таблиця 29). Мішень-специфічний цитоліз, індукований одновалентними ТСВ 16D5 (16D5 HT і 16D5 1+1), виявився слабкіше, ніж індукований двовалентними ТСВ 16D5 (ТСВ 16D5 і ТСВ 16D5 "класична"). Дані про величини EC₅₀, отримані в аналізі цитолізу, які розраховували з використанням програми GraphPadPrism6, узагальнено в таблиці 28. Важливо

відзначити, що представлені дані свідчать про те, що застосування FolR1-зв'язувального агента 36F2 у двовалентному форматі "TCB 2+1" дозволяє розширити терапевтичне вікно в порівнянні з FOLR1-TCB 16D5 (фіг. 24A-B). У той час як ефективність 16D5 у порівнянні з FOLR1-TCB 36F2 є більш низькою приблизно в 45 раз відносно клітин HeLa (високий рівень експресії FOLR1, див. таблицю 28: 0,8 для TCB 16D5 у порівнянні з 36,0 для TCB 36F2) і приблизно в 297 раз відносно клітин SKOV3 (середній рівень експресії FOLR1, див. таблицю 28: 0,6 для TCB 16D5 у порівнянні з 178,4 для TCB 36F2), це зниження виявилось майже 7000-кратним відносно клітин HT29, що характеризуються низьким рівнем експресії FOLR1 (див. таблицю 28: 5,7 для TCB 16D5 у порівнянні з 39573 для TCB 36F2). Таким чином, FOLR1-TCB 36F2 розрізняє клітини з високим і низьким рівнем експресії, що є особливо важливим з погляду зниження токсичності, оскільки клітини деяких здорових неканцерогенних тканин характеризуються дуже низькими рівнями експресії FolR1 (приблизно менше 1000 копій на клітину). З отриманими даними узгоджуються результати, обговорені в наведеному нижче прикладі 35, які демонструють, що TCB 36F2 не індукуює опосередкований T-клітинами цитоліз первинних клітин (фіг. 26A-Г), у той час як при застосуванні TCB 16D5 виявилось можливим виявити певний рівень цитолізу клітин HRCEpC і HRPEpC після інкубації протягом 48 год. (фіг. 26Б і В). Ця важлива характеристика TCB 36F2 дозволяє здійснювати дозування при лікуванні FolR1-позитивних пухлин таким чином, щоб воно забезпечувало сильний цитоліз пухлинних тканин з високим або середнім рівнем експресії FOLR1, але не здорових тканин з низьким рівнем експресії (частково поляризованих). Важливо відзначити, що ця характеристика, ймовірно, обумовлена авідністю TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1 інвертована", оскільки вона не виявлена при застосуванні такого зв'язувального агента 36F2, що ж має низьку афінність в одновалентних форматах "1+1".

Іншими словами, TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1" містить зв'язувальні FolR1 фрагменти з відносно низькою афінністю, але має ефект авідності, який дозволяє розрізняти клітини з високим і низьким рівнем експресії FolR1. Оскільки пухлинні клітини характеризуються високими або проміжними рівнями експресії FolR1, то вказана TCB вибірково зв'язується з пухлинними клітинами, але не зі здоровими неканцерогенними клітинами, які характеризуються низькими рівнями або відсутністю експресії FolR1.

Крім вказаних вище кращих характеристик TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1 інвертована" має також перевагу, що полягає у тому, що для її одержання не потрібно здійснювати хімічне перехресне зшивання або застосовувати інший заснований на гібридизації підхід. Це робить її придатною для приготування лікарського засобу для лікування пацієнтів, наприклад, пацієнтів, що мають FolR1-позитивні злоякісні пухлини. TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1 інвертована" можна одержувати з низьким вмістом агрегатів за допомогою стандартних процесів, заснованих на використанні CHO. Крім того, TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1" містить людські й гуманізовані послідовності, тобто вона має перевагу в порівнянні з молекулами, у яких застосовують щурячі й мишині поліпептиди, що мають високу імуногенність при введенні людині. Крім того, TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1" сконструйована так, щоб елімінувати зв'язування з FcgR і тому вона не викликає перехресного зшивання з FcgR і реакцій на інфузію, що ще більш підвищує її безпеку при введенні пацієнтам.

Описані вище результати демонструють, що завдяки своїй геометричній конфігурації "голова-до хвоста" TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1 інвертована" є високо ефективною молекулою, яка індукуює повний цитоліз клітин-мішеней. Двовалентність підвищує її авідність і ефективність, але також забезпечує здатність розрізняти клітини з високим і низьким рівнем експресії. Її вибірковість відносно клітин з високим або середнім рівнем експресії, обумовлена її авідністю, приводить до зниження токсичності, що викликається опосередкованим T-клітинами цитолізом здорових клітин, що характеризуються низькими рівнями експресії FolR1.

Ще однією перевагою TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1" і інших варіантів, представлених у даному описі, є те, що їх створення для клінічного застосування не вимагає використання сурогатних молекул, оскільки вони зв'язуються з FolR1 людини, мавп чиномолгус і мишей. Представлені в даному описі молекули самі по собі розпізнають епітоп, відмінний від епітопу, що розпізнається раніше описаними антитілами до FolR1, які не розпізнають FolR1 усіх трьох видів.

Таблиця 28: Величини EC_{50} (пМ), що характеризують опосередкований T-клітинами цитоліз пухлинних клітин, що експресують FolR1, індукований TCB 36F2 і TCB 16D5 у різних одновалентних і двовалентних форматах біспецифічної молекули, що активує T-клітину, після інкубації протягом 24 год.

Антитіло	HeLa (високий рівень FolR1)	SKOV-3 (середній рівень FolR1)	HT-29 (низький рівень FolR1)
TCB 16D5	0,8	0,6	5,7
TCB 16D5 у форматі "класична»	4,6	2,0	13,0
TCB 16D5 у форматі "HT»	11,6	12,3	15,1
TCB 16D5 у форматі "1+1»	23,8	48,9	883,8*
TCB 36F2	36,0	178,4	39573,0*

* крива не досягла насичення, представлена тільки гіпотетична величина

5 У таблиці 29 представлено порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 і TCB 36F2, отримані для різних протестованих клітинних ліній. На основі отриманих величин EC_{50} були розраховані величини різниці (Δ , дельта) (EC_{50} для TCB 16D5 мінус EC_{50} для TCB 36F2) і х-кратна різниця (EC_{50} для TCB 16D5, ділена на EC_{50} для TCB 36F2).

Таблиця 29: Порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 і TCB 36F2

Антитіло	HeLa (високий рівень FolR1)	SKOV-3 (середній рівень FolR1)	HT-29 (низький рівень FolR1)
TCB 16D5	0,82	0,63	5,73
TCB 36F2	35,99	178,40	39573,00*
Δ	35,17	177,77	39567,27
х-кратна різниця	43,83	284,61	6906,58

* крива не досягла насичення, представлена тільки гіпотетична величина

10 Розраховані величини EC_{50} чітко демонструють, що різниця між TCB 36F2 і TCB 16D5 стає тим більше, ніж нижче рівень експресії FolR1 на клітинах-мішенях.

15 Такі ж розрахунки з метою порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 і TCB 36F2 минулого зроблені для TCB 16D5 і двох одновалентні TCB 16D5 (TCB 16D5 HT і 16D5 1+1). У таблицях 30 і 31 представлено порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 с TCB 16D5 HT (таблиця 30) і TCB 16D5 с TCB 16D5 1+1 (таблиця 31), а також відповідні величини різниць (дельта) (EC_{50} для 16D5 TCB мінус EC_{50} для TCB 16D5 HT/1+1) і х-кратних різниць (EC_{50} для TCB 16D5, ділена на EC_{50} для TCB 16D5 HT/1+1).

20 Таблиця 30: Порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 "2+1 інвертована" і TCB 16D5 HT

Антитіло	HeLa (високий рівень FolR1)	SKOV-3 (середній рівень FolR1)	HT-29 (низький рівень FolR1)
TCB 16D5	0,82	0,63	5,73
TCB 16D5 HT	11,61	12,27	15,11
Δ	10,79	11,65	9,38
х-кратна різниця	14,14	19,58	2,64

Таблиця 31: Порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 і TCB 16D5 1+1

Антитіло	HeLa (високий рівень FolR1)	SKOV-3 (середній рівень FolR1)	HT-29 (низький рівень FolR1)
TCB 16D5	0,82	0,63	5,73
TCB 16D5 1+1	23,84	48,86	883,78*
Δ	23,02	48,24	878,05
х-кратна різниця	29,03	77,95	154,24

25 * крива не досягла насичення, представлена тільки гіпотетична величина

30 Порівняння величин EC_{50} для TCB 16D5 і TCB 36F2 (таблиця 29) продемонструвало, що різниця у величинах EC_{50} стає тим більше, ніж нижче рівень експресії FolR1 на клітинах-мішенях. Цей ефект не виявлений при порівнянні TCB 16D5 і одновалентних TCB 16D5 (таблиця 29 і таблиця 30). Для TCB 16D5 1+1 (таблиця 31) має місце також невелике збільшення різниці між величинами EC_{50} для TCB 16D5 і TCB 16D5 1+1 при зниженні рівня експресії FolR1, однак це не так сильно виражене, як можна бачити при порівнянні TCB 16D5 с TCB 36F2.

Приклад 34

Підвищувальна регуляція CD25 і CD69 на ефektorних CD8⁺- і CD4⁺-клітинах після опосередкованого Т-клітинами цитолізу пухлинних клітин, що експресують FolR1, індукованого антитілом TCB 36F2 і антитілом TCB 16D5

Активацию CD8⁺- і CD4⁺-Т-клітин після цитолізу Т-клітинами пухлинних клітин, що експресують FolR1 HeLa, SKOV-3 HT-29, опосередкованого TCB 36F2 і TCB 16D5, оцінювали за допомогою FACS-аналізу з використанням антитіл, що розпізнають маркери активації Т-клітин CD25 (маркер пізньої активації) і CD69 (маркер ранньої активації). TCB DP47 включали як незв'язувальний контроль. Антитіло й умови проведення аналізу цитолізу були практично такими ж, що описані вище (приклад 32), використовували такий же діапазон концентрацій антитіла (0,01 пМ-100 нМ у трьох повторях), співвідношення Е:Т дорівнювало 10:1 і час інкубації становив 48 год.

Після інкубації PBMC переносили в круглодонний 96-лунковий планшет, центрифугували при 400 × g протягом 4 хв і двічі промивали ЗФР, що містять 0,1 % БСА. Фарбування поверхні для виявлення CD8 (кон'юговане з PE антитіло до людського CD8, BD № 555635), CD4 (мічене Brilliant Violet 421™ антитіло до людського CD4, BioLegend № 300532), CD69 (кон'юговане з ФІТЦ антитіло до людського CD69, BD № 555530) і CD25 (кон'юговане з APC антитіло до людського CD25 BD № 555434) здійснювали згідно з інструкціями виробника. Клітини промивали двічі з використанням по 150 мкл/лунку ЗФР, що містить 0,1 % БСА. Після центрифугування зразки ресуспендували в 200 мкл/лунку ЗФР із 0,1 % БСА для вимірювань методом FACS. Зразки аналізували за допомогою обладнання BD FACS Canto II.

TCB 36F2 індукувала мішень-специфічну підвищувальну регуляцію маркерів активації (CD25, CD69) на CD8⁺- і CD4⁺-Т-клітинах після цитолізу клітин HeLa (фіг. 25А) і SKOV-3 (фіг. 25Б). TCB 36F2 індукувала підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 на CD8⁺- і CD4⁺-Т-клітинах набагато слабше в порівнянні з TCB 16D5.

На клітинах HT-29 (низький рівень FolR1) підвищувальну регуляцію маркерів активації виявилось можливим виявляти тільки при найбільш високій концентрації TCB 36F2. На відміну від цього, при застосуванні TCB 16D5 підвищувальну регуляцію CD25 і CD69 виявилось можливим виявляти вже при набагато менших концентраціях антитіла (фіг. 25С).

Аналогічно до того, як це було встановлено в експерименті з лізису пухлини, аналіз маркерів активації (CD25 і CD69) на Т-клітинах (CD4⁺- і CD8⁺-) після цитолізу чітко продемонстрував, що різниця між TCB 16D5 і TCB 36F2 проявляється тим більше, ніж менше рівень експресії FolR1 на клітинах-мішенях.

Приклад 35

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз первинних клітин, індукований TCB 36F2 і TCB 16D5

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований TCB 36F2 і TCB 16D5 оцінювали на первинних клітинах (людські клітини кортикального ниркового епітелію (HRCepiC) (фірма ScienCell Research Laboratories; каталожний номер 4110) і людські клітини ретинального пігментного епітелію (HRPEpiC) (фірма ScienCell Research Laboratories; каталожний номер 6540)). Клітини HT-29 (низький рівень FolR1) включали як контрольну клітинну лінію. TCB DP47 служили як незв'язувальний контроль. Людські PBMC застосовували як ефектори, і цитоліз оцінювали після інкубації протягом 24 год. і 48 год. у присутності біспецифічних антитіл. У цілому метод полягав у наступному. Клітини-мішені збирали з використанням трипсину/ЕДТА, промивали й висівали із щільністю 25000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети. Клітинам давали прикріплюватися протягом ночі. Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих від здорових донорів. Свіжу кров розводили стерильним ЗФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, H8889). Після центрифугування (450 × g, 30 хв, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, що містить PBMC, відкидали й PBMC переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл ЗФР. Суміш центрифугували (400 × g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали й дебрис PBMC промивали двічі стерильним ЗФР (стадії центрифугування при 350 × g, 10 хв). Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції PBMC (обладнання ViCell) і зберігали в середовищі RPMI 1640, що містить 10 % FCS і 1 % L-аланілу-L-глутаміну (фірма Biochrom, K0302) при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі для клітин до подальшого використання (не більше 24 год.). Для аналізу цитолізу антитіло додавали в вказаних концентраціях (у діапазоні від 0,01 пМ до 10 нМ у трьох повторях). Додавали PBMC до клітин-мішеней у кінцевому співвідношенні Е:Т=10:1. Цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 24 і 48 год. при 37 °C, 5 % CO₂ шляхом кількісної оцінки вивільнення ЛДГ у клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма

Roche Applied Science, каталожний номер 11 644 793 001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней у присутності 1 % Тритону X-100. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без біспецифічних конструкцій.

Результати свідчать про те, що TCB 36F2 не індукувала опосередковуваний Т-клітинами цитоліз первинних клітин (фіг. 26А-Г), у той час як виявився можливим виявити певний рівень цитолізу, індукований TCB 16D5 на клітинах HRCepiC і клітинах HRPEpiC після інкубації протягом 48 год. (фіг. 26Б і Г). Як описано вище, була виявлений значна різниця між опосередковуваним Т-клітинами цитолізом клітин HT-29, індукованому TCB 16D5 і TCB 36F2 (фіг. 26Д, Е).

Приклад 36

Одержання TCB DP47 GS ("2+1 CrossFab-igg P329G LALA інвертована", тобто "ненацілена TCB")

"Ненацілену TCB" застосовували як контроль в описаних вище експериментах. Біспецифічне антитіло зв'язується з CD3ε, але не зв'язується ні з яким іншим антигеном і тому не може забезпечувати перехресне зшивання Т-клітин з якими-небудь клітинами-мішенями (і отже не може індукувати цитоліз). Тому її застосовували в аналізах як негативний контроль для виявлення будь-якої неспецифічної активації Т-клітин. Вказану "ненацілену TCB" одержували згідно з методом, описаним в WO 2014/131712. У цілому метод полягав у наступному. Варіабельну ділянку послідовностей ДНК важкого й легкого ланцюга субклонували в рамці зчитування або з константним важким ланцюгом, або з константним легким ланцюгом, попередньо вбудованим у відповідний реципієнтний експресійний вектор для клітин ссавців. Експресія антитіла перебувала під контролем промотору MPSV і вектор ніс синтетичну сигнальну поліА-послідовність на 3'-кінці CDS. Крім того, кожний вектор містив послідовність Oriр EBV.

Молекулу одержували шляхом спільної трансфекції клітин HEK293-EBNA експресійними векторами для клітин ссавців з використанням поліетиленіміну. Клітини трансфектували відповідними експресійними векторами в співвідношенні 1:2:1:1 ("вектор для важкого ланцюга Fc(западина):«вектор для легкого ланцюга»:«вектор для легкого ланцюга CrossFab»:«вектор для важкого ланцюга Fc(виступ)-FabCrossfab").

Для трансфекції клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в культуральному середовищі CD CHO. Для одержання в 500-мілілітрові струшувані колби засівали 400 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції. Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 × g і супернатант заміняли 20 мкл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO, до одержання кінцевої кількості ДНК 200 мкг. Після додавання 540 мкл поліетиленіміну (PEI) розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/PEI, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції в культуру додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 15 хв при 210 × g, розчин стерилізували фільтрацією (фільтр із розміром пор 0,22 мкм), доповнювали азидом натрію до кінцевої концентрації 0,01 % (мас./об.) і витримували при 4 °C.

Секретований білок очищали із супернатантів клітинних культур за допомогою афінної хроматографії з використанням білка А. Супернатант вносили в колонку HiTrap ProteinA HP (CV=5 мл, фірма GE Healthcare), урівноважену 40 мл буфера, що містить 20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, рН 7,5. Незв'язаний білок видаляли шляхом промивання буфером, що містить 20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, 0,5М хлорид натрію (рН 7,5), використовуючи його в обсязі, кратному по меншій 10 об'ємам колонки. Необхідний білок елюювали буфером, узятим в об'ємі, що дорівнює 20 об'ємам колонки, використовуючи градієнт від 20 мМ цитрату натрію, 0,5М хлориду натрію, рН 7,5 до 20 мМ цитрату натрію, 0,5М хлориду натрію, рН 2,5. Розчин, що містить білок, нейтралізували, додаючи в кількості, що становить 1/10, 0,5М фосфат натрію, рН 8. Необхідний білок концентрували й фільтрували перед внесенням в колонку HiLoad Superdex 200 (фірма GE Healthcare), урівноважену розчином, що містить 20 мМ гістидин, 140 мМ хлорид натрію, рН 6,0.

Концентрацію білка в очищених зразках, що містять білок, визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм із використанням коефіцієнта молярної екстинкції, розрахованого на основі амінокислотної послідовності.

Чистоту й молекулярну масу молекул аналізували за допомогою KE-ДСН-аналізу в присутності й за відсутності відновника. Застосовували систему Caliper LabChip GXII (фірма Caliper lifescience) згідно з інструкціями виробника. Для аналізів використовували зразок масою 2 мкг.

5 Вміст агрегатів у зразках антитіла аналізували з використанням аналітичної колонки для гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh) у рухомому буфері, що містить 25 мМ K_2HPO_4 , 125 мМ NaCl, 200 мМ L-моногідрохлорид аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN_3 , pH 6,7, при 25 °С.

10 Таблиця 32: Узагальнення даних про одержання й очищення TCB DP47 GS

Конструкція	Титр [мг/л]	Вихід [мг/л]	Вміст агрегатів після 1-ї стадії очищення [%]	HMW [%]	LMW [%]	Вміст мономерів [%]
TCB DP47 GS	103,7	8,04	8	2,3	6,9	91,8

Таблиця 33: Результати KE-ДСН-аналізу TCB DP47 GS

	Пік	кДа	Відповідний ланцюг
TCB DP47 GS невідновлювальні умови (А)	1	165,22	молекула, у якій відсутні 2 легкі ланцюги
	2	181,35	молекула, у якій відсутні 1 легкий ланцюг
	3	190,58	правильна молекула без N-зв'язаного глікозилювання
	4	198,98	правильна молекула
TCB DP47 GS відновлювальні умови (Б)	1	27,86	легкий ланцюг DP47 GS
	2	35,74	легкий ланцюг huCH2527
	3	63,57	Fc (із западиною)
	4	93,02	Fc (з виступом)

15 Приклад 37

Зв'язування TCB 16D5 і TCB 9D11 і їх відповідних зв'язувальних CD3 варіантів з вилученими сайтами деамідування N100A і S100aA з клітинами Jurkat, що експресують CD3

Зв'язування TCB 16D5 і відповідних зв'язувальних CD3 варіантів з вилученими сайтами деамідування TCB 16D5 N100A і TCB 16D5 S100aA і TCB 9D11 і варіантів з вилученими сайтами деамідування TCB 9D11 N100A і TCB 9D11 S100aA з людським CD3 оцінювали на CD3-експресуючій іморталізованій лінії Т-лімфоцитів (Jurkat). У цілому метод полягав у наступному. Клітини збирали, підраховували, перевіряли на життєздатність і ресуспендували в концентрації 2×10^6 клітин/мл у буфері для FACS (100 мкл 3ФР, 0,1 % БСА). 100 мкл суспензії клітин (що містить $0,2 \times 10^6$ клітин) інкубували в круглодонних 96-лункових планшетах протягом 30 хв при 4 °С з узяними в різних концентраціях біспецифічними антитілами (686 пМ-500 нМ). Після двох стадій промивання холодним 3ФР, що містить 0,1 % БСА, зразки повторно інкубували ще протягом 30 хв при 4 °С з кон'югованим з PE F(ab')₂-фрагментом козячого антилюдського IgG, Fcg-специфічного AffiniPure (фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-116-170). Після дворазового промивання зразків холодним 3ФР, що містять 0,1 % БСА, їх відразу аналізували за допомогою FACS з використанням обладнання FACS Cantoll (програма FACS Diva). Криві зв'язування одержували за допомогою програми GraphPadPrism6 (фіг. 28А-Б).

Результати свідчать про знижене зв'язування варіантів з вилученими сайтами деамідування N100A і S100aA з CD3 у порівнянні з батьківськими антитілами TCB 16D5 (фіг. 28А) і TCB 9D11 (фіг. 28Б).

35 Приклад 38

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин SKOV-3 і HT-29, індукований TCB 16D5 і TCB 9D11 і їх зв'язувальних CD3 варіантів з вилученими сайтами деамідування N100A і S100aA

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований TCB 16D5 і відповідними зв'язувальними CD3 варіантами з вилученими сайтами деамідування TCB 16D5 N100A і TCB 16D5 S100aA і TCB 9D11 і деамідованими варіантами TCB 9D11 N100A і TCB 9D11 S100aA, оцінювали на клітинах SKOV-3 (середній рівень FcIR1) і HT-29 (низький рівень FcIR1). Людські РВМС застосовували як ефектори, і цитоліз оцінювали після інкубації протягом 24 год. з біспецифічними антитілами. У цілому метод полягав у наступному. Клітини-мішені збирали з використанням трипсину/ЕДТА, промивали й висівали із щільністю 25000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети. Клітинам давали прикріпитися протягом ночі. Мононуклеарні клітини периферичної крові (РВМС) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини

Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих від здорових донорів. Свіжу кров розводили стерильним 3ФР і нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, H8889). Після центрифугування (450 × g, 30 хв, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, що містить РВМС, відкидали й РВМС переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл 3ФР. Суміш центрифугували (400 × g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали й дебрис РВМС промивали двічі стерильним 3ФР (стадії центрифугування при 350 × g, 10 хв). Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції РВМС (обладнання ViCell) і зберігали в середовищі RPMI 1640, що містить 10 % FCS і 1 % L-аланін-L-глутаміну (фірма Biochrom, K0302) при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі для клітин до подальшого використання (не більше 24 год.). Для аналізу цитолізу антитіло додавали в вказаних концентраціях (у діапазоні від 0,01 нМ до 10 нМ у трьох повторях). Додавали РВМС до клітин-мішеней у кінцевому співвідношенні Е:Т=10:1. Цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 24 при 37 °C, 5 % CO₂ шляхом кількісної оцінки вивільнення ЛДГ у клітинні супернатанти апоптозними/некротизованими клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, каталожний номер 11 644 793 001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней у присутності 1 % Тритону Х-100. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без біспецифічних конструкцій.

Результати свідчать про те, що для клітин SKOV-3 рівень цитолізу, індукований зв'язувальними CD3 варіантами з вилученими сайтами деамідування TCB 16D5 N100A і TCB 16D5 S100aA, був порівнянний з рівнем, індукованим TCB 16D5 (фіг. 29А). Такий же результат був отриманий для TCB 9D11 і її варіантів TCB 9D11 N100A і TCB 9D11 S100aA (фіг. 29Б). У випадку, що характеризуються низьким рівнем експресії FcγR1 клітин HT-29 варіант S100aA мав знижену ефективність відносно цитолізу як у випадку TCB 16D5 (фіг. 30А), так і у випадку TCB 9D11 (фіг. 30Б). Величини EC₅₀, отримані при аналізі цитолізу, які розраховували з використанням програми GraphPadPrism6, представлено в таблиці 35.

Таблиця 35: Величини EC₅₀ (нМ), що характеризують опосередкований Т-клітинами лізис клітин SKOV-3, що експресують FcγR1, і HT-29, індукований TCB 16D5 і TCB 9D11 і їх варіантами з вилученими сайтами деамідування N100A і A100aA

Антитіло	EC ₅₀ [нМ]	
	SKOV-3	HT-29
TCB 16D5	1,283	56,67
TCB 16D5 N100A	1,886	91,95
TCB 16D5 S100aA	1,939	165,6
TCB 9D11	1,283	2,827
TCB 9D11 N100A	1,886	37,72
TCB 9D11 S100aA	1,939	n.d.*

* не визначали

Приклад 39

Біохімічна характеристика методом поверхневого плазмонного резонансу двох TCB, що містять варіанти CD3-зв'язувального агента (N100A і S100aA) з вилученим сайтом деамідування)

Зв'язування двох TCB 16D5, що містять варіанти CD3-зв'язувального агента (N100A або S100aA), з людським рекомбінантним CD3 (гетеродимер CD3ε-CD3δ у вигляді злиття з Fc) оцінювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR). Усі SPR-експерименти здійснювали з використанням BIAcore T200 при 25 °C, застосовуючи як рухомий буфер HBS-EP (0,01M HEPES, pH 7,4, 0,15M NaCl, 3мМ EDTA, 0,005 % сурфактанта P20, фірма BIAcore, Фрейбург/Німеччина).

Афінність до CD3ε-Fc

Афінність взаємодії між анти-FcγR1 біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантним гетеродимером CD3-ε-CD3δ оцінювали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 36).

Для вимірювання афінності здійснювали безпосередню комбінацію антилюдського Fab-специфічного антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня іммобілізації, що відповідає приблизно 6000 резонансних одиниць (RU), на CM5-чипі при pH 5,0 з використанням набору для стандартного амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FcγR1, біспецифічні молекули, що активують Т-клітину в концентрації 200 нМ захоплювали при швидкості потоку 20 мкл/хв протягом 60 с, у проточній референс-комірці захоплення не

здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 4,1 до 3000 нМ злиття рецептор 1 людини, мавп циномолгус або мишей з Fc (рецептор 1-Fc) при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 240 с і для запуску заміняли розчин зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу, використовуючи дві ін'єкції по 60 с із використанням 10 мМ гліцину-HCl, pH 1,5. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці 1. Константи афінності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 36: Одновалентне зв'язування (афінність) двох варіантів 16D5 у вигляді TCB з вилученими сайтами деамідування в CD3-зв'язувальному агенті з людським CD3ed-Fc

Ліганд	Аналіт	ka (1/Мс)	kd (1/с)	K _D
16D5 TCB N100A	huCD3	1,23E+04	4,67E-03	380 нМ
16D5 TCB S100aA	huCD3	1,21E+04	5,49E-03	460 нМ
16D5 TCB	huCD3	2,03E+04	4,41E-03	220 нМ

Два варіанти з CD3-зв'язувальним агентом з вилученими сайтами деамідування мали небагато більш низьку афінність у порівнянні з молекулою, що містить CD3-зв'язувальний агент дикого типу (CH2527), однак відмінність не була дуже важливою.

Приклад 40

Одержання й очищення двох варіантів біспецифічної молекули, що активує Т-клітину 16D5 с мутаціями для видалення сайту деамідування в CD3-зв'язувальному агенті: TCB 16D5 N100A, TCB 16D5 S100aA

Короткочасна трансфекція й одержання

Два варіанти TCB 16D5 с вилученими сайтами деамідування короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA за допомогою опосередкованої PEI процедури трансфекції необхідними векторами відповідно до описаного нижче методу. Клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в культуральному середовищі CD CHO. Для одержання в 500-мілілітрові струшувані колби засівали 400 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції. Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 × g і супернатант заміняли 20 мкл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO, до одержання кінцевої кількості 200 мкг ДНК. Після додавання 540 мкл поліетиленіміну (PEI) розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/PEI, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції в культуру додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 15 хв при 210 × g, розчин стерилізували фільтрацією (фільтр із розміром пор 0,22 мкм), доповнювали азидом натрію до кінцевої концентрації 0,01 % (мас./об.) і витримували при 4 °C.

Очищення

Здійснювали двостадійне очищення двох варіантів TCB 16D5 с вилученими сайтами деамідування за допомогою стандартних процедур, таких як афінне очищення з використанням білка A (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення pH супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до pH 8,0 (використовуючи 2М ТРИС, pH 8,0) і вносили в MabSelect Sure (фірма GE Healthcare, об'єм колонки (cv) = 2 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (cv), буфером А (20 мМ фосфат натрію, pH 7,5, 20 мМ цитрат натрію). Після промивання 10 cv буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт pH до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, pH 3, 100 мМ NaCl, 100 мМ гліцин) з використанням об'єму, що дорівнює 20 cv. Об'єднували фракції, які містять білок, що представляє інтерес, і значення pH розчину обережно доводили до pH 6,0 (використовуючи 0,5М Na₂HPO₄, pH 8,0). Зразки концентрували до 1 мл з використанням ультра-концентраторів (Amicon Ultra-15, 30.000 MWCO, Millipore) і потім вносили в препаративну колонку HiLoad™16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare), урівноважену буфером, що містить 20 мМ гістидин, pH 6,0, 140 мМ NaCl. Вміст агрегатів в елюйованих фракціях аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації. Для цього 30 мкл кожної фракції вносили в колонку для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить 25мМ K₂HPO₄, 125мМ NaCl, 200мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN₃, pH 6,7

при 25 °С. Фракції, що містять менше 2 % олігомерів, об'єднували. Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструкцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом і без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки заморожували в рідкому N₂ і зберігали при -80 °С.

Таблиця 36: Вихід, вміст мономерів і чистота за даними аналізу методом КЕ-ДСН двох варіантів 16D5 с вилученими сайтами деамідування у форматі біспецифічної молекули, що активує Т-клітину,

Позначення	Мутація в CD3-зв'язувальному агентові	Вихід [мг/л]	Вміст мономерів [%]	Чистота за даними КЕ-ДСН [%]
TCB 16D5	N100A	9	100	89
TCB 16D5	S100aA	23	100	83
TCB 16D5	дикий тип	9	100	93

Обидві TCB одержували з високою якістю, подібною до якості конструкції, що містить CD3-зв'язувальний агент дикого типу.

Приклад 41

Одержання й очищення двох варіантів зв'язувального агента 16D5 (D52dE і D52dQ) у форматі IgG з вилученою « гарячою точкою» в CDR

Короткочасна трансфекція й одержання

Дві молекули у форматі IgG короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA за допомогою опосередкованої PEI процедури трансфекції необхідними векторами відповідно описаній нижче процедурі. Клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в культуральному середовищі CD CHO. Для одержання в 500-мілілітрові струшувані колби засівали 400 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції (для одержання в інших масштабах усі кількості регулювали відповідним чином). Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 × g і супернатант заміняли 20 мкл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO, до одержання кінцевої кількості 200 мкг ДНК. Після додавання 540 мкл поліетиленіміну (PEI) розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/PEI, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37 °С в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції в культуру додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 15 хв при 210 × g, розчин стерилізували фільтрацією (0,22 мкм-фільтр), доповнювали азидом натрію до кінцевої концентрації 0,01 % (мас./ об.) і витримували при 4 °С. Після одержання супернатанти збирали й супернатанти, що містять антитіло, фільтрували через стерильні фільтри з розміром пор 0,22 мкм і зберігали при 4 °С до очищення.

Очищення антитіла

Здійснювали двостадійне очищення двох IgG за допомогою стандартних процедур, таких як афінне очищення з використанням білка А (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення рН супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до рН 8,0 (використовуючи 2М ТРИС, рН 8,0) і вносили в колонку POROS MabCapture A (фірма Applied Biosystems, об'єм колонки (cv) = 1 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (cv), буфером А (20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, рН 7,5). Після промивання 10 cv буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт рН до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, рН 3, 100 мМ NaCl, 100 мМ гліцин) з використанням об'єму, що дорівнює 20 cv. 5 мл середовища, що містить інтерес, що представляє, білок, запасали в петлі на Äkta Explorer і потім вносили в HiLoad 16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare) урівноважену 20 мМ гістидином, рН 6,0, 140 мМ NaCl (Твін не застосовували).

Об'єднували фракції, що містять IgG і концентрували з використанням ультра-концентраторів (Amicon Ultra-15, 30.000 MWCO, фірма Millipore) і потім вносили в колонку для препаративної хроматографії HiLoad™16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare). Вміст агрегатів у кінцевому пулі аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації. Для цього 30 мкл вносили в колонку для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить 25мМ K₂HPO₄, 125мМ NaCl, 200мМ

моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./ об.) NaN_3 , pH 6,7 при 25 °C. Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструкцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом і без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки зберігали при 4 °C.

Таблиця 37: Вихід, вміст мономерів і чистота за даними аналізу методом KE-ДСН двох варіантів 16D5 у форматі IgG з вилученими « гарячими точками»

Клон	Мутація в HC/LC	Вихід [мг/л]	Вміст мономерів [%]	Чистота за даними KE-ДСН [%]
16D5	D52dE	24	100	96
16D5	D52dQ	20	100	96

Обидві молекули у форматі IgG одержували легко й з гарною якістю.

Приклад 42

Біохімічна характеристика методом поверхневого плазмонного резонансу двох варіантів зв'язувальної молекули 16D5 (D52dE і D52dQ) у форматі IgG з вилученою « гарячою точкою» в CDR

Зв'язування двох варіантів зв'язувальної молекули 16D5 (D52dE і D52dQ) у форматі IgG з рекомбінантним фолатним рецептором 1 людини й мавп циномолгус (обидва у вигляді злиттів з Fc) оцінювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR). Усі SPR-експерименти здійснювали з використанням BIAcore T200 при 25 °C, застосовуючи як рухомий буфер HBS-EP (0,01M HEPES, pH 7,4, 0,15M NaCl, 3мМ EDTA, 0,005 % сурфактанта P20, фірма BIAcore, Фрейбург/Німеччина).

1. Авідність до фолатного рецептора 1

Авідність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами оцінювали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 38).

Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (FolR1-Fc) з Sa-чіпом згідно з інструкціями за стандартною комбінацією (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації відповідав приблизно 160 RU. Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, в діапазоні концентрацій від 3,7 до 900 нМ пропускали при швидкості потоку 30 мкл/хв через проточні гнізда протягом 180 с. Моніторинг дисоціації здійснювали протягом 600 с. Усі відмінності в коефіцієнті заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці з іммобілізованим злиттям рекомбінантний біотинілований мишиний рецептор IL2-Fc. Криві зв'язування, отримані в результаті двовалентного зв'язування IgG або біспецифічних молекул, що активують Т-клітину, апроксимували на основі моделі зв'язування за типом 1:1 Ленгмюра (навіть незважаючи на те, що в цьому випадку має місце зв'язування за типом 1:2) і підганяли до цієї моделі для одержання уявної величини K_D , що характеризує авідність двовалентного зв'язування. Уявні константи авідності, що характеризують взаємодії, одержували на основі констант швидкості, визначених у результаті припасування з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 38: Двовалентне зв'язування (авідність, що характеризується уявною величиною K_D) двох варіантів 16D5 у форматі IgG з вилученою « гарячою точкою» з FolR1 людини, мишей і мавп циномолгус (зв'язування з muFolR1 не мало місця, як і слід було сподіватися).

Аналіт	Ліганд	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	Уявна величина K_D
16D5 D52dE IgG	huFolR1	1,62E+05	5,45E-04	3,4нМ
	cyFolR1	2,98E+06	7,47E-03	2,5нМ
16D5 D52dQ IgG	huFolR1	8,40E+04	7,75E-04	9,2нМ
	cyFolR1	4,12E+05	2,04E-03	5нМ
16D5 TCB	huFolR1	2,25E+05	5,00E-04	2,2нМ
	cyFolR1	2,71E+05	6,63E-04	2,5нМ

Афінність до фолатного рецептора 1

Афінність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами оцінювали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 39).

Для вимірювання афінності здійснювали безпосередню комбінацію специфічного у відношенні людського Fab антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня іммобілізації, що відповідає приблизно 10000 резонансних одиниць (RU), на CM5-чипі при pH 5,0 з використанням стандартного набору для амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують T-клітину, в концентрації 20 нМ захоплювали при швидкості потоку 10 мкл/хв протягом 40 с, у проточній референс-комірці захоплення не здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 12,35 до 3000 нМ злиття фолатного рецептора 1 людини й мавп циномолгус із Fc при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 300 с і для запуску заміняли розчин зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу, здійснюючи дві ін'єкції по 60 с із використанням 10 мМ гліцину-HCl, pH 1,5. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці 1. Константи афінності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 39: Одновалентне зв'язування (афінність) двох варіантів 16D5 у форматі IgG з вилученою « гарячою точкою » з FolR1 людини й мавп циномолгус

Ліганд	Аналіт	ka (1/Мс)	kd (1/с)	K _D
IgG 16D5 D52dE	huFolR1	2,40E+04	2,27E-03	95нМ
	cyFolR1	2,25E+04	1,20E-02	530 нМ
IgG 16D5 D52dQ	huFolR1	6,97E+03	1,62E-03	230 нМ
	cyFolR1	8,20E+03	3,32E-03	410 нМ
16D5 TCB	huFolR1	2,05E+04	7,05E-04	35нМ
	cyFolR1	1,72E+04	1,62E-03	90 нМ

Два варіанти 16D5 з вилученою « гарячою точкою » мали подібну авідність (двовалентне зв'язування) у порівнянні зі зв'язувальною молекулою 16D5 дикого типу. Авідність варіанта з D52dQ була трохи нижче, і ця відмінність була ще більш виражена при порівнянні афінностей (одновалентне зв'язування).

Приклад 43

Одержання й очищення дванадцяти варіантів зв'язувальної молекули 16D5 у форматі IgG з мутаціями у важкому й легкому ланцюзі, що приводять до зниження афінності до FolR1

Короткочасна трансфекція й одержання

Дванадцять молекул у форматі IgG короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA за допомогою опосередкованої PEI процедури трансфекції необхідними векторами відповідно описаній нижче процедурі. Клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в культуральному середовищі CD CHO. Для одержання в 500-мілілітрові струшувані колби засівали 400 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції (для одержання в інших масштабах усі кількості регулювали відповідним чином). Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при 210 × g і супернатант заміняли 20 мкл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO, до одержання кінцевої кількості 200 мкг ДНК. Після додавання 540 мкл PEI розчин інтенсивно перемішували протягом 15 с і інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Потім клітини змішували з розчином ДНК/PEI, переносили в 500-мілілітрову струшувану колбу й інкубували протягом 3 год. при 37 °C в інкубаторі в атмосфері з 5 % CO₂. Після інкубації додавали 160 мл середовища F17 і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції в культуру додавали 1мМ вальпроєву кислоту й 7 % Feed 1. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 15 хв при 210 × g, розчин стерилізували фільтрацією (0,22 мкм-фільтр), додавали азид натрію до кінцевої концентрації 0,01 % (мас./об.) і витримували при 4 °C. Після одержання супернатанти збирали й супернатанти, що містять антитіло, фільтрували через 0,22 мікрометрові стерильні фільтри й зберігали при 4 °C до очищення.

Очищення антитіл

Здійснювали двостадійне очищення всіх молекул за допомогою стандартних процедур, таких як афінне очищення з використанням білка A (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення pH супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до pH 8,0 (використовуючи 2М ТРИС, pH 8,0) і вносили в колонку POROS MabCapture A (фірма Applied Biosystems, об'єм колонки (cv) = 1 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (cv), буфером A (20 мМ фосфат натрію, 20 мМ цитрат натрію, pH 7,5). Після

промивання 10 св буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт рН до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, рН 3,0, 100 мМ NaCl, 100 мМ гліцин) з використанням об'єму, що дорівнює 5 св. 5 мл середовища, що містить інтерес, що представляє, білок, запасали в петлі на Äkta Explorer і потім вносили в колонку HiLoad 16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare) урівноважену 10 буфером, що містить 20 мМ гістидин, рН 6,0, 140 мМ NaCl, 0,01 % Твін-20. Об'єднували фракції, що містять IgG і концентрували з використанням ультра-концентраторів (Amicon Ultra-15, 30.000 MWCO, фірма Millipore). Вміст агрегатів у кінцевому пулі аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації. Для цього 30 мкл вносили в колонку для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить 25мМ K₂HPO₄, 125мМ NaCl, 200мМ моногідроклорид L-аргініну, 0,02 % (мас./ об.) NaN₃, рН 6,7 при 25 °С. Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструкцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом і без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки зберігали при 4 °С.

Таблиця 40: Вихід, вміст мономерів і чистота за даними KE-ДСН дванадцяти варіантів 16D5 у форматі IgG

Клон	Мутація в HC/LC	Вихід [мг/л]	Вміст мономерів [%]	Чистота за даними KE-ДСН [%]
16D5	W98Y/wt	32	100	100
16D5	W98Y/K53A	24	100	100
16D5	S35H/wt	21	100	100
16D5	S35H/K53A	18	100	100
16D5	S35H/S93A	18	100	100
16D5	W96Y/wt	40	100	100
16D5	W96Y/K53A	21	100	100
16D5	W96Y/S93A	25	98	100
16D5	R50S/K53A	10	98	100
16D5	R50S/S93A	7	100	100
16D5	G49S/K53A	42	100	100
16D5	G49S/S93A	45	100	100

Усі дванадцять IgG одержували легко й з гарною якістю.

Приклад 44

Біохімічна характеристика варіантів 16D5 у форматі IgG з різними комбінаціями важкої й легкої ланцюгів методом поверхневого плазмонного резонансу

Зв'язування варіантів FolR1-16D5 с різними комбінаціями важкої й легкої ланцюгів у форматі IgG з різними рекомбінантними фолатними рецепторами (FolR1 людини, мишей і мавп циномолгус; усе у вигляді злиттів з Fc) оцінювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR). Усі SPR-експерименти здійснювали з використанням BIAcore T200 при 25 °С, застосовуючи як рухомий буфер HBS-EP (0,01М HEPES, рН 7,4, 0,15М NaCl, 3мМ ЕДТА, 0,005 % сурфактанта P20, фірма BIAcore, Фрейбург/Німеччина).

Авідність до фолатного рецептора 1

Авідність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами оцінювали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 41).

Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілизованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (FolR1-Fc) з Sa-чіпом згідно з інструкціями за стандартною комбінацією (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації відповідав приблизно 300 RU. Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, в діапазоні концентрацій від 11,1 до 900 нМ пропускали при швидкості потоку 30 мкл/хв через проточні гнізда протягом 180 с. Моніторинг дисоціації здійснювали протягом 240 або 600 с. Усі відмінності в коефіцієнті заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці з іммобілізованим злиттям рекомбінантний біотинілований мишиний рецептор IL2-Fc. Криві зв'язування, отримані в результаті двовалентного зв'язування IgG або біспецифічних молекул, що активують Т-клітину, апроксимували на основі моделі зв'язування за типом 1:1 Ленгмюра (навіть незважаючи на те, що в цьому випадку має місце зв'язування за типом 1:2) і підганяли до цієї моделі для одержання уявної величини K_D, що характеризує авідність двовалентного зв'язування. Уявні

константи авідності, що характеризують взаємодії, одержували на основі констант швидкості, визначених у результаті припасування з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare). У випадку низкоафінної кінетики, коли фази асоціації й дисоціації проходили занадто швидко, щоб їх можна було підігнати до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, застосовували модель для аналізу стаціонарного стану з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare). Аналіз стаціонарного стану дозволяв одержати величини K_D для реакції зв'язування в стані рівноваги.

Таблиця 41: Двовалентне зв'язування (авідність, що характеризується уявною величиною K_D) дванадцяти варіантів зв'язувальних молекул 16D5 у форматі IgG з FolR1 людини, мишей і мавп циномологус

Аналіт варіант HC/варіант LC	Ліганд	k_a (1/Mc)	k_d (1/)	Уявна величина K_D
W98Y/K53A	huFolR1			слабке зв'язування
	cyFolR1			слабке зв'язування
S35H/K53A	huFolR1	2,10E+04	2,91E-02	1400 нМ
	cyFolR1	3,47E+04	4,04E-02	1100 нМ
W96Y/K53A	huFolR1			580 нМ (стаціонарний стан)
	cyFolR1			660 нМ (стаціонарний стан)
W98Y/wt	huFolR1	1,36E+05	3,28E-02	240 нМ
	cyFolR1	1,71E+05	3,61E-02	200 нМ
S35H/S93A	huFolR1	2,43E+05	2,20E-02	90 нМ
	cyFolR1	6,12E+05	6,77E-02	110 нМ
G49S/K53A	huFolR1	1,90E+05	1,15E-02	60 нМ
	cyFolR1	3,93E+05	3,28E-02	80 нМ
R50S/K53A	huFolR1	3,28E+05	1,97E-02	60 нМ
	cyFolR1	5,50E+05	4,55E-02	80 нМ
S35H/wt	huFolR1	1,32E+05	5,68E-03	40 нМ
	cyFolR1	2,23E+05	1,24E-02	55нМ
R50S/S93A	huFolR1	1,25E+05	3,23E-03	30 нМ
	cyFolR1	4,39E+05	7,80E-03	20 нМ
W96Y/S93A	huFolR1	6,55E+05	1,89E-02	30 нМ
	cyFolR1	6,25E+05	1,74E-02	30 нМ
G49S/S93A	huFolR1	1,52E+05	3,06E-03	20 нМ
	cyFolR1	3,58E+05	6,22E-03	20 нМ
W96Y/wt	huFolR1	1,29E+05	2,13E-03	20 нМ
	cyFolR1	1,73E+05	2,11E-03	10 нМ
36F2 TCB	huFolR1	2,44E+06	1,37E-02	6нМ
	cyFolR1	4,12E+06	2,15E-02	5нМ
	muFolR1	4,86E+05	1,20E-03	2,5нМ
16D5 TCB	huFolR1	1,41E+05	4,25E-04	3нМ
	cyFolR1	1,78E+05	6,39E-04	3,5нМ

Афінність до фолатного рецептора 1

Афінність взаємодії між анти-FolR1 IgG або біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами оцінювали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 42).

Для вимірювання афінності здійснювали безпосередню комбінацію антилюдського Fab-специфічного антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня іммобілізації, що відповідає приблизно 10000 резонансних одиниць (RU), на CM5-чипі при pH 5,0 з використанням набору для стандартного амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, в концентрації 200 нМ захоплювали при швидкості потоку 10 мкл/хв протягом 40 с, у проточній референс-комірці захоплення не здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 12,35 до 3000 нМ злиття людський фолатний рецептор 1-Fc при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 300 с і для запуску заміняли розчин зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу, використовуючи дві ін'єкції по 60 с із використанням 10 мМ гліцину-HCl, pH 1,5. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в

проточний референс-копірці 1. Константи афінності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 42: Одновалентне зв'язування (афінність) дванадцяти варіантів 16D5 у форматі IgG з FolR1 людини, мавп циномолгус і мишей

Ліганд варіант HC/варіант LC	Аналіт	ka (1/Мс)	kd (1/с)	K _D
W98Y/K53A	huFolR1			зв'язування відсутнє
S35H/K53A	huFolR1			слабке зв'язування
W96Y/K53A	huFolR1			слабке зв'язування
W98Y/wt	huFolR1			5400 нМ (стаціонарний стан)
G49S/K53A	huFolR1	9,19E+03	1,74E-02	1900 нМ
R50S/K53A	huFolR1	1,35E+04	2,45E-02	1800 нМ
36F2 TCB	huFolR1	5,00E+04	8,57E-02	1700 нМ
S35H/S93A	huFolR1	8,43E+03	1,12E-02	1300 нМ
S35H/wt	huFolR1	8,96E+03	1,13E-02	1200 нМ
R50S/S93A	huFolR1	1,57E+04	1,23E-02	780 нМ
G49S/S93A	huFolR1	1,05E+04	7,99E-03	760 нМ
W96Y/wt	huFolR1	9,95E+03	5,44E-03	550 нМ
W96Y/S93A	huFolR1	4,05E+04	1,72E-02	420 нМ
16D5 TCB	huFolR1	1,18E+04	7,22E-04	60 нМ

Дванадцять варіантів "зі зниженою афінністю" FolR1-зв'язувального агента 16D5 аналізували методом поверхневого плазмонного резонансу в порівнянні з зв'язувальним агентом 16D5 дикого типу і зв'язувальним агентом 36F2. Ціль полягала в тому, щоб знайти варіант 16D5 з афінністю й авідністю, порівнянню з 36F2. При вимірюванні одновалентного зв'язування (афінність) були виявлені варіанти з більш високої й варіанти з більш низькою афінністю в порівнянні з 36F2. Однак при оцінці двовалентного зв'язування (авідність) виявилось, що всі варіанти характеризувалися більш високими уявними величинами K_D у порівнянні з 36F2. Це обумовлено в основному швидкою дисоціацією (ka) 36F2, що приводить до малої уявної величини K_D 36F2. Ймовірно, ефект великої авідності при двовалентному зв'язуванні 36F2 є унікальним, властивим цьому зв'язувальному агенту. Як відзначалося вище, 36F2 виявився єдиним зв'язувальним агентом, що має крос-реактивність до рецептора людини, мишей і мавп циномолгус, який удалося ідентифікувати.

Приклад 45

Зв'язування варіантів 16D5 з різними HC/LC з людським FolR1, експресованих на клітинах HeLa

Зв'язування TCB 36F2, TCB 16D5 і варіантів 16D5 з різними HC/LC з людським FolR1 аналізували на клітинах HeLa. У цілому метод полягав у наступному. Клітини збирали, підраховували, перевіряли на життєздатність і ресуспендували з розрахунку 2×10^6 клітин/мл у буфері для FACS (100 мкл 3ФР, 0,1 % БСА). 100 мкл суспензії клітин (що містить $0,2 \times 10^6$ клітин) інкубували в круглодонних 96-лункових планшетах протягом 30 хв при 4 °C в узятими в різних концентраціях біспецифічними антитілами (229нМ-500 нМ). Після двох стадій промивання холодним 3ФР, що містять 0,1 % БСА, зразки повторно інкубували протягом ще 30 хв при 4 °C з кон'югованим з PE F(ab')₂-фрагментом козячого антилюдського IgG, Fcγ-фрагмент-специфічного, AffiniPure (фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-116-170). Після дворазового промивання зразків холодним 3ФР, що містять 0,1 % БСА, їх фіксували з використанням 1 % ПФА протягом ночі. Потім зразки центрифугували, ресуспендували в 3ФР, що містить 0,1 % БСА й аналізували за допомогою FACS з використанням обладнання FACS Cantoll (програма FACS Diva). Криві зв'язування одержували за допомогою програми GraphPadPrism6 (фіг. 32A-Д). TCB 36F2, що зв'язується з FolR2, не мав гарної переносимості для мишей і не мав необхідної ефективності.

Приклад 46

Одержання й очищення чотирьох варіантів біспецифічної молекули 16D5, що активує T-клітини, з мутаціями, що знижують афінність до FolR1 людини й мавп циномолгус: TCB 16D5 G49S/S93A, G49S/K53A, W96Y, W96Y/D52E

Короткочасна трансфекція й одержання

Чотири додаткові варіанти TCB 16D5, що володіють зниженою афінністю до FolR1, короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA за допомогою описаної нижче опосередкованої PEI процедури трансфекції клітин з використанням необхідних векторів. Для

трансфекції клітини HEK293 EBNA клітин культивували в безсироватковій суспензії в культуральному середовищі Excell, що містить 6мМ L-глутамін і 250 мг/л культурального середовища G418. Для виробництва висівали в центрифужний флакон місткістю 600 мл (максимальний робітник об'єм 400 мл) 600 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції.

Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при $210 \times g$, супернатант заміняли 20 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO до 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 і інкубували протягом 3 год. при 37°C в інкубаторі в атмосфері, що містить 5 % CO_2 . Після інкубації додавали 360 мл середовища Excell+6мМ L-глутамін + 5 г/л Perso+1,0 мМ VPA, і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції додавали 7 % Feed 7. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 20-30 хв при $3600 \times g$ (центрифуга Sigma 8K), розчин стерилізували фільтрацією (фільтр із розміром пор 0,22 мкм) і додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мас./об.) і зберігали при 4°C .

Очищення

Здійснювали двостадійне очищення варіантів TCB 16D5 зі зниженою афінністю за допомогою стандартних процедур, таких як афінне очищення з використанням білка А (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення рН супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до рН 8,0 (використовуючи 2М ТРИС, рН 8,0) і вносили в HiTrap Protein А (фірма GE Healthcare, об'єм колонки (св) = 5 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (св), буфером А (20 мМ фосфат натрію, рН 7,5, 20 мМ цитрат натрію). Після промивання 10 св буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт рН до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, рН 3,0, 100 мМ NaCl, 100 мМ гліцин) з використанням об'єму, що дорівнює 20 св. Об'єднували фракції, які містять білок, що представляє інтерес, і значення рН розчину обережно доводили до рН 6,0 (використовуючи 0,5М Na_2HPO_4 , рН 8,0). Зразки концентрували до об'єму 1 мл з використанням ультра-концентраторів (Amicon Ultra-15, 30.000 MWCO, фірма Millipore) і потім вносили в колонку для препаративної хроматографії HiLoad 16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare) урівноважену буфером, що містить 20 мМ гістидин, рН 6,0, 140 мМ NaCl, 0,01 % Твін-20. Вміст агрегатів в елююваних фракціях аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації. Для цього 30 мкл кожної фракції вносили в колонку для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить 25мМ K_2HPO_4 , 125мМ NaCl, 200мМ моногідроклорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN_3 , рН 6,7, при 25°C . Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструкцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом або без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки заморожували в рідкому N_2 і зберігали при -80°C .

Таблиця 43: Вихід, вміст мономерів і чистота за даними KE-ДСН варіантів 16D5 зі зниженою афінністю у форматі біспецифічної молекули, що активує Т-клітину,

Позначення	Мутації, що приводять до зниження афінності	Вихід [мг/л]	Вміст мономерів [%]	Чистота за даними KE-ДСН [%]
TCB 16D5	G49S S93A	10,3	100	88
TCB 16D5	G49S K53A	22,3	98,5	96
TCB 16D5	W96Y	15,2	98,7	92,5
TCB 16D5	W96Y D52E	9,9	99,3	92,9
TCB 16D5	дикий тип	5,4	96	91,6

Усі варіанти зі зниженою афінністю можна одержувати з гарною якістю.

Приклад 47

Зв'язування TCB 36F2, TCB 16D5 і двох варіантів 16D5 зі зниженою афінністю TCB 16D5 W96Y/D52E і TCB 16D5 G49S/S93A з людським FolR1, експресованих на клітинах HeLa

Зв'язування TCB 36F2, TCB 16D5 і двох варіантів 16D5 зі зниженою афінністю TCB 16D5 W96Y/D52E і TCB 16D5 G49S/S93A з людським FolR1 оцінювали на клітинах HeLa. У цілому метод полягав у наступному. Клітини збирали, підраховували, перевіряли на життєздатність і ресуспендували при концентрації 2×10^6 клітин/мл у буфері для FACS (100 мкл 3ФР, 0,1 %

BCA). 100 мкл суспензії клітин (що містить $0,2 \times 10^6$ клітин) інкубували в круглодонних 96-лункових планшетах протягом 30 хв при 4°C з узятими в різних концентраціях біспецифічними антитілами (30пМ-500 нМ). Після двох стадій промивання холодним ЗФР, що містять 0,1 % БСА, зразки повторно інкубували протягом ще 30 хв при 4°C з кон'югованим з ФІТЦ F(ab')₂-фрагментом козячого антилюдського IgG, Fcy-фрагмент-специфічного AffiniPure (фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-096-098). Після дворазового промивання зразків холодним ЗФР, що містять 0,1 % БСА, зразки центрифугували, ресуспендували в ЗФР, що містить 0,1 % БСА й аналізували за допомогою FACS з використанням обладнання FACS Cantoll (програма FACS Diva). Криві зв'язування одержували за допомогою програми GraphPadPrism6 (фіг. 33).

Приклад 48

Одержання й очищення трьох біспецифічних молекул, що активують Т-клітину із проміжною афінністю до FcR1 людини й мавп циномоглус: 14B1, 6E10, 2C7

Короткочасна трансфекція й одержання

TCB із проміжною афінністю короткочасно одержували в клітинах HEK293 EBNA за допомогою описаної нижче опосередковуваної PEI процедури трансфекції клітин з використанням необхідних векторів. Для трансфекції клітини HEK293 EBNA культивували в безсироватковій суспензії в культуральному середовищі Excell, що містить 6мМ L-глутамін і 250 мг/л культурального середовища G418. Для виробництва висівали в центрифужний флакон місткістю 600 мл (максимальний робітник об'єм 400 мл) 600 млн клітин HEK293 EBNA за 24 год. до трансфекції. Для трансфекції клітини центрифугували протягом 5 хв при $210 \times g$, супернатант заміняли 20 мл попередньо нагрітого середовища CD CHO. Експресійні вектори змішували в 20 мл середовища CD CHO до одержання кінцевої кількості ДНК 400 мкг. Після додавання 1080 мкл розчину PEI (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/PEI, переносили в 600-мілілітровий центрифужний флакон і інкубували протягом 3 год. при 37°C в інкубаторі в атмосфері, що містить 5 % CO₂. Після інкубації додавали 360 мл середовища Excell+6мМ L-глутамін + 5 г/л Pepsoy+1,0 мМ VPA, і клітини культивували протягом 24 год. Через 1 день після трансфекції додавали 7 % Feed 7. Після культивування протягом 7 днів супернатант збирали для очищення шляхом центрифугування протягом 20-30 хв при $3600 \times g$ (центрифуга Sigma 8K), розчин стерилізували фільтрацією (0,22 мкм фільтр) і додавали азид натрію в кінцевій концентрації 0,01 % (мА./об.) і зберігали при 4°C .

Очищення

Здійснювали двостадійне очищення варіантів TCB 16D5 із проміжною афінністю за допомогою стандартних процедур, таких як афінне очищення з використанням білка А (фірма Äkta Explorer) і гель-фільтрація. Значення рН супернатанта, отриманого за допомогою короткочасного виробництва, доводили до рН 8,0 (використовуючи 2М ТРИС, рН 8,0) і вносили в HiTrap Protein А (фірма GE Healthcare, об'єм колонки (cv) = 5 мл), урівноважену взятим в об'ємі, що дорівнює 8 об'ємам колонки (cv), буфером А (20 мМ фосфат натрію, рН 7,5, 20 мМ цитрат натрію). Після промивання 10 cv буфера А, білок елюювали, застосовуючи градієнт рН до буфера Б (20 мМ цитрат натрію, рН 3,0, 100 мМ NaCl, 100 мМ гліцин) з використанням об'єму, що дорівнює 20 cv. Об'єднували фракції, які містять білок, що представляє інтерес, і значення рН розчину обережно доводили до рН 6,0 (використовуючи 0,5М Na₂HPO₄, рН 8,0). Зразки концентрували до об'єму 1 мл з використанням ультра-концентраторів (Amicon Ultra-15, 30.000 MWCO, фірма Millipore) і потім вносили в препаративну колонку HiLoad 16/60 Superdex™ 200 (фірма GE Healthcare) урівноважену буфером, що містить 20 мМ гістидин, рН 6,0, 140 мМ NaCl, 0,01 % Твін-20. Вміст агрегатів в елюйованих фракціях аналізували за допомогою аналітичної гель-фільтрації. Для цього 30 мкл кожної фракції вносили в колонку для аналітичної гель-фільтрації TSKgel G3000 SW XL (фірма Tosoh), урівноважену рухомим буфером, що містить 25мМ K₂HPO₄, 125мМ NaCl, 200 мМ моногідрохлорид L-аргініну, 0,02 % (мас./об.) NaN₃, рН 6,7, при 25°C . Об'єднували фракції, що містять менше 2 % олігомерів. Концентрацію білка визначали шляхом вимірювання оптичної густини (ОГ) при 280 нм, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, розрахований на основі амінокислотної послідовності. Чистоту й молекулярну масу конструкцій аналізували за допомогою капілярного електрофорезу в присутності ДСН із відновлюючим агентом або без нього згідно з інструкціями виробника (обладнання Caliper LabChipGX, фірма Perkin Elmer). Очищені білки заморожували в рідкому N₂ і зберігали при -80°C .

Таблиця 44: Вихід, вміст мономерів і чистота за даними КЕ-ДСН варіантів 16D5 із проміжною афінністю

Позначення	Вихід [мг/л]	Вміст мономерів [%]	Чистота за даними КЕ-ДСН [%]
TCB 6E10	2,3	93	95
TCB 14B1	1,8	94	70
TCB 9C7	3,4	98	99

5 Вдалося одержати всі біспецифічні молекули, що активують Т-клітину із проміжною афінністю. Виходи виявилися невисокими. Якість була гарною для 9C7 і прийнятним для 14B1 і 6E10.

Приклад 49

10 Зв'язування варіантів 16D5 с різними НС/ЛС з людським FolR1, експресованих на клітинах HT-29

Зв'язування TCB 36F2, TCB 16D5 і варіантів 16D5 с різними НС/ЛС (фіг. 34А-Д) з людським FolR1 оцінювали на клітинах HT-29. У цілому метод полягав у наступному. Клітини збирали, підраховували, перевіряли на життєздатність і ресуспендували при концентрації 2×10^6 клітин/мл у буфері для FACS (100 мкл ЗФР, 0,1 % БСА). 100 мкл суспензії клітин (що містить $0,2 \times 10^6$ клітин) інкубували в круглодонних 96-лункових планшетах протягом 30 хв при 4 °С з узятим в різних концентраціях біспецифічними антитілами (229пМ-500 нМ). Після двох стадій промивання холодним ЗФР, що містять 0,1 % БСА, зразки повторно інкубували протягом ще 30 хв при 4 °С з кон'югованим з ФІТЦ F(ab')₂-фрагментом козячого антилюдського IgG, Fcγ-фрагмент-специфічного AffiniPure (фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-116-170). Після дворазового промивання зразків холодним ЗФР, що містять 0,1 % БСА, зразки центрифугували, ресуспендували в ЗФР, що містить 0,1 % БСА й аналізували за допомогою FACS з використанням обладнання FACS Cantoll (програма FACS Diva). Криві зв'язування одержували за допомогою програми GraphPadPrism6 (фіг. 33).

Приклад 50

25 Зв'язування FolR1-зв'язувальних агентів із проміжною афінністю з людським і мишиним FolR1 і FolR2

Крос-реактивність FolR1-зв'язувальних агентів із проміжною афінністю (TCB 6E10, TCB 14B1 і TCB 9C7), а також TCB 16D5 і TCB 36F2 з людським і мишиним FolR1 і FolR2, оцінювали шляхом аналізу зв'язування методом FACS на трансфектованих НЕК 293Т-клітинах.

30 У цілому метод полягав у наступному. Клітини збирали, підраховували, перевіряли на життєздатність і ресуспендували при концентрації 2×10^6 клітин/мл у буфері для FACS (100 мкл ЗФР, 0,1 % БСА). 100 мкл суспензії клітин (що містить $0,2 \times 10^6$ клітин) інкубували в круглодонних 96-лункових планшетах протягом 30 хв при 4 °С з біспецифічними антитілами в концентрації 100 нМ. Після двох стадій промивання холодним ЗФР, що містять 0,1 % БСА, зразки повторно інкубували протягом ще 30 хв при 4 °С з кон'югованим з ФІТЦ F(ab')₂-фрагментом козячого антилюдського IgG, Fcγ-фрагмент-специфічного AffiniPure (фірма Jackson ImmunoResearch, каталожний номер 109-096-098). Після дворазового промивання зразків холодним ЗФР, що містять 0,1 % БСА, зразки центрифугували, ресуспендували в ЗФР, що містять 0,1 % БСА й аналізували за допомогою FACS з використанням обладнання FACS Cantoll (програма FACS Diva). Графіки одержували за допомогою програми GraphPadPrism6 (фіг. 35А-Г).

Результати свідчать про те, що TCB 36F2 і TCB 14B1 мали крос-реактивність до мишиного FolR1 і до людського й мишиного FolR2. Для TCB 6E10 виявилось можливим виявити слабке зв'язування з людським FolR2. TCB 16D5 і TCB 9C7 мали специфічність у відношенні людського FolR1 і не мали крос-реактивності до мишиного FolR1 або до людського й мишиного FolR2.

Приклад 51

45 Біохімічна характеристика методом поверхневого плазмонного резонансу варіантів 16D5 зі зниженою афінністю й додаткових зв'язувальних агентів із проміжною афінністю у форматі біспецифічної молекули, що активує Т-клітину

50 Зв'язування варіантів анти-FolR1 16D5 зі зниженою афінністю й додаткових зв'язувальних агентів із проміжною афінністю у форматі двовалентної біспецифічної молекули, що активує Т-клітину з рекомбінантним фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (усе у вигляді злиттів з Fc) оцінювали методом поверхневого плазмонного резонансу (SPR). Усі SPR-експерименти проводили на обладнанні BIAcore T200 при 25 °С з використанням HBS-EP як рухомий буфер (0,01М HEPES, рН 7,4, 0,15М NaCl, 3мМ ЕДТА, 0,005 % сурфактанта P20, фірма BIAcore, GE Healthcare). Молекули, що застосовувалися для оцінки афінності й авідності, описано в таблиці 45.

Таблиця 45: Позначення, опис дев'яти конструкцій, що застосовувалися в аналізі методом SPR, і посилання на відповідні креслення

Позначення	Опис	Посилання на креслення
Варіанти 16D5 зі зниженою афінністю TCB 16D5 TCB 16D5 G49S/S93A TCB 16D5 G49S/K53A TCB 16D5 W96Y TCB 16D5 W96Y/D52E	формат біспецифічної молекули, що активує Т-клітину, "2+1 інвертована" (загальний легкий ланцюг)	фіг. 1A
Зв'язувальні агенти із проміжною афінністю TCB 36F2 TCB 6E10 TCB 14B1 TCB 9C7	формат біспецифічної молекули, що активує Т-клітину, "2+1, Crossfab")	фіг. 1E

5 Однократні ін'єкції

Спочатку анти-FolR1 TCB аналізували, здійснюючи однократні ін'єкції (таблиця 46), для характеристики їх крос-реактивності (до FolR1 людини, мишей і мавп циномолгус) і специфічності (у відношенні людського FolR1, людського FolR2, людського FolR3). Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілизованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (FolR1-Fc) або з людським фолатним рецептором 2 і 3 (FolR2-Fc, FolR3-Fc) з Sa-чіпом згідно з інструкціями за стандартною комбінацією (фірма BIAcore, Фрейбург/Німеччина). Рівень іммобілізації становив приблизно 300-400 RU. TCB ін'єкували протягом 60 с у концентрації 500 нМ.

Таблиця 46: Крос-реактивність і специфічність до фолатного рецептора 1 7 біспецифічних агентів, що активують Т-клітину. + позначає наявність зв'язування, - позначає відсутність зв'язування, ± позначає наявність слабого зв'язування

Позначення клону	Зв'язування з huFolR1	Зв'язування з cyFolR1	Зв'язування з muFolR1	Зв'язування з huFolR2	Зв'язування з huFolR3
TCB 16D5	+	+	-	-	-
TCB 16D5 G49S/S93A	+	+	-	-	-
TCB 16D5 W96Y/D52E	+	+	-	-	-
TCB 36F2	+	+	+	±	-
TCB 6E10	+	+	-	-	-
TCB 14B1	+	+	+	±	-
TCB 9C7	+	+	-	-	-

Авідність до фолатного рецептора 1

Авідність взаємодії між анти-FolR1 біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами оцінювали відповідно до описаного нижче методу (таблицю 47).

Здійснювали безпосереднє сполучення злиттів рекомбінантного біотинілизованого мономерного Fc з фолатним рецептором 1 людини, мавп циномолгус і мишей (FolR1-Fc) з Sa-чіпом згідно з інструкціями за стандартною комбінацією (фірма BIAcore, Фрейбург, Німеччина). Рівень іммобілізації відповідав приблизно 200-300 RU. Анти-FolR1 IgG або біспецифічні молекули, що активують Т-клітину, в діапазоні концентрацій від 11,1 до 900 нМ (для варіантів 16D5 зі зниженою афінністю) або від 0,2 до 500 нМ (для додаткових зв'язувальних агентів із проміжною афінністю й 36F2) пропускали при швидкості потоку 30 мкл/хв через проточні гнізда протягом 180 с. Моніторинг дисоціації здійснювали протягом 240 або 600 с. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу за допомогою дворазової ін'єкції по 30 с 10 мМ гліцину-HCl, pH 1,5. Усі відмінності в коефіцієнті заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці з іммобілізованим злиттям рекомбінантний біотинілований мишиний рецептор IL2-Fc (неспоріднений злитий з Fc рецептор). Криві

зв'язування, отримані в результаті двовалентного зв'язування IgG або біспецифічних молекул, що активують Т-клітину, апроксимували на основі моделі зв'язування за типом 1:1 Ленгмюра (навіть незважаючи на те, що в цьому випадку має місце зв'язування за типом 1:2) і підганяли до цієї моделі для одержання уявної величини K_D , що характеризує авідність двовалентного зв'язування. Уявні константи авідності, що характеризують взаємодії, одержували на основі констант швидкості, визначених у результаті припасування з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare).

Таблиця 47: Двовалентне зв'язування (авідність, що характеризується уявною величиною K_D) анти-FolR1 біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB) з FolR1 людини, мавп циномолгус і мишей

Аналіт	Ліганд	k_a (1/Mc)	k_d (1/c)	Уявна величина K_D
TCB 16D5	huFolR1	1,68E+05	4,33E-04	3нМ
	cyFolR1	2,08E+05	6,95E-04	3нМ
TCB 16D5 G49S/S93A	huFolR1	1,49E+05	2,09E-03	10 нМ
	cyFolR1	4,54E+05	7,84E-03	20 нМ
TCB 16D5 G49S/K53A	huFolR1	1,32E+05	5,86E-03	40 нМ
	cyFolR1	3,73E+05	2,56E-02	70 нМ
TCB 16D5 W96Y	huFolR1	1,15E+05	1,44E-03	10 нМ
	cyFolR1	1,37E+05	1,68E-03	10 нМ
TCB 16D5 W96Y/D52E	huFolR1	1,24E+05	1,40E-03	10 нМ
	cyFolR1	5,17E+05	1,41E-02	30 нМ
TCB 36F2	huFolR1	1,12E+06	7,90E-03	7нМ
	cyFolR1	1,97E+06	1,10E-02	6нМ
	muFolR1	5,54E+05	1,47E-03	3нМ
TCB 6E10	huFolR1	7,93E+06	8,74E-03	1нМ
	cyFolR1	5,56E+06	5,72E-03	1нМ
TCB 14B1	huFolR1	1,12E+06	1,40E-03	1нМ
	cyFolR1	1,02E+06	1,66E-03	2нМ
	muFolR1	8,03E+06	8,20E-04	0,1нМ
TCB 9C7	huFolR1	1,18E+06	1,42E-03	1нМ
	cyFolR1	4,98E+06	4,82E-03	1нМ

3. Афіність до фолатного рецептора 1

Афіність взаємодії між анти-FolR1 біспецифічними молекулами, що активують Т-клітину, й рекомбінантними фолатними рецепторами визначали відповідно до описаного нижче методу (таблиця 48).

Для вимірювання афіності здійснювали безпосередню комбінацію антилюдського Fab-специфічного антитіла (набір для захоплення Fab, фірма GE Healthcare) до досягнення рівня іммобілізації, що відповідає приблизно 10000 резонансних одиниць (RU), на CM5-чипі при pH 5,0 з використанням стандартного набору для амінного сполучення (фірма GE Healthcare). Анти-FolR1, біспецифічні молекули, що активують Т-клітину в концентрації 20 нМ захоплювали при швидкості потоку 10 мкл/хв протягом 40 с, у проточній референс-комірці захоплення не здійснювали. Через усі проточні гнізда пропускали серійні розведення (від 12,35 до 3000 нМ злиття фолатного рецептора 1 людини, мавп циномолгус або мишей з Fc (фолатний рецептор 1-Fc) при швидкості потоку 30 мкл/хв протягом 240 с для реєстрації фази асоціації. Моніторинг фази дисоціації здійснювали протягом 300 с і для запуску заміняли розчин зразка на HBS-EP. Поверхню чіпа регенерували після кожного циклу, використовуючи дві ін'єкції по 60 с із використанням 10 мМ гліцину-HCl, pH 2,1. Відмінності всіх показників заломлення коректували шляхом вирахування відповіді, отриманої в проточній референс-комірці 1. Константи афіності, що характеризують взаємодії, визначали на основі констант швидкості шляхом припасування до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, використовуючи програму Bia Evaluation (фірма GE Healthcare). У випадку низькоафіної кінетики, коли фази асоціації й дисоціації проходили занадто швидко, щоб їх можна було підігнати до моделі зв'язування 1:1 Ленгмюра, застосовували модель для аналізу стаціонарного стану з використанням програми Bia Evaluation (фірма GE Healthcare). Аналіз стаціонарного стану дозволяв одержати величини K_D реакції зв'язування в стані рівноваги.

Таблиця 48: Одновалентне зв'язування (афінність) анти-FolR1 біспецифічних молекул, що активують Т-клітину (TCB) з FolR1 людини, мавп циномолгус і мишей

Аналіт	Ліганд	ka (1/Мс)	kd (1/с)	K _D
TCB 16D5	huFolR1	1,22E+04	7,02E-04	57нМ
	cyFolR1	1,29E+04	1,71E-03	130 нМ
TCB 16D5 G49S/S93A	huFolR1	1,01E+04	8,37E-03	830 нМ
	cyFolR1	2,05E+04	8,60E-03	420 нМ
TCB 16D5 G49S/K53A	huFolR1	9,17E+03	1,59E-02	1700 нМ
	cyFolR1			1900 нМ (аналіз стаціонарного стану)
TCB 16D5 W96Y	huFolR1	1,11E+04	4,05E-03	370 нМ
	cyFolR1	1,17E+04	5,16E-03	440 нМ
TCB 16D5 W96Y/D52E	huFolR1			1400 нМ (аналіз стаціонарного стану)
	cyFolR1			5600 нМ (аналіз стаціонарного стану)
TCB 36F2	huFolR1			1400 нМ (аналіз стаціонарного стану)
	cyFolR1			1500 нМ (аналіз стаціонарного стану)
	muFolR1	3,50E+04	1,73E-02	490 нМ
TCB 6E10	huFolR1			1200 нМ (аналіз стаціонарного стану)
	cyFolR1			1500 нМ (аналіз стаціонарного стану)
TCB 14B1	huFolR1	6,16E+04	3,03E-02	490 нМ
	cyFolR1			1200 нМ (аналіз стаціонарного стану)
	muFolR1	7,03E+04	2,28E-03	30 нМ
TCB 9C7	huFolR1			840 нМ (аналіз стаціонарного стану)
	cyFolR1			1400 нМ (аналіз стаціонарного стану)

Мутації, інтродуковані в зв'язувальні агенти 16D5, знижували їх афінність до FolR1 людини й мавп циномолгус за даними оцінки методом поверхневого плазмонного резонансу. У порядку зниження афінності зв'язувальні агенти ранжувались у такий спосіб: 16D5 WT (57нМ) > W96Y (нижче в 6, 5 рази) > G49S/S93A (нижче в 14,5 раз) > W96Y/D52E (нижче в 24, 5 рази) > G49S/K53A (нижче в 30 разів). Аналогічне ранжирування можна здійснювати й для величин авідності, однак кратність відмінностей у цьому випадку менше: 16D5 WT (3нМ) > W96Y, G49S/S93A, W96Y/D52E (нижче в 3 рази) > G49S/K53A (нижче в 13 раз).

Зв'язувальні агенти із проміжною афінністю ранжувались залежно від афінності в такий спосіб: 16D5 (57нМ) > 14B1 (нижче в 8, 5 рази) > 9C7 (нижче в 15 раз) > 6E10 (нижче в 21 раз) > 36F2 (нижче в 24, 5 рази). Однак такі відмінності не були виявлені при порівнянні результатів вимірювань авідності: 14B1, 9C7, 6E10 (1нМ) > 16D5 (3нМ) > 36F2 (7нМ).

TCB 16D5 W96Y/D52E дозволяє вирішувати проблеми, характерні для попередніх кандидатів. Основою TCB 16D5 W96Y/D52E був зв'язувальний агент 16D5 із загальним легким ланцюгом і ця молекула мала дві точкові мутації у важкого ланцюга в порівнянні з батьківським зв'язувальним агентом 16D5. Мутація W96Y знижувала афінність зв'язувального агента до FolR1 у порівнянні з батьківським зв'язувальним агентом, а мутація D52E видаляла сайт деамідування й також вносила вклад у зниження афінності. TCB 16D5 W96Y/D52E зв'язувалася з FolR1 людини й мавп циномолгус, але не з мишиним FolR1. Вона мала специфічність у відношенні FolR1 і не зв'язувалася з рекомбінантним людським FolR2 або людським FolR3. Афінність (одновалентне зв'язування) 16D5 W96Y/D52E до людського FolR1 становила приблизно 1,4мкМ (в 24, 5 рази нижче, ніж афінність батьківського зв'язувального агента 16D5), а авідність (двовалентне зв'язування) становила приблизно 10 нМ (в 3 рази нижче, ніж авідність батьківського зв'язувального агента 16D5).

Приклад 52

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HeLa, SKOV-3 і HT-29, індукований анти-FolR1 TCB із проміжною афінністю

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований FolR1-зв'язувальними агентами із проміжною афінністю (TCB 6E10, TCB 14B1 і TCB 9C7), оцінювали на клітинах HeLa (високий рівень FolR1), SKOV-3 (середній рівень FolR1) і HT-29 (низький рівень FolR1). TCB 16D5 і TCB 36F2 включали в якості еталонів. Людські РВМС застосовували як ефектори, і цитоліз оцінювали після інкубації протягом 24 год. і 48 год. у присутності біспецифічних антитіл. У цілому метод полягав у наступному. Клітини-мішені збирали з використанням трипсину/ЕДТА, промивали й висівали із щільністю 25000 клітин/лунку в плоскодонні 96-лункові планшети. Клітинам давали прикріпитися протягом ночі. Мононуклеарні клітини периферичної крові

(PBMC) одержували шляхом центрифугування в градієнті густини Histopaque зі збагачених лімфоцитами препаратів (лейкоцитарні плівки), отриманих від здорових донорів. Свіжу кров розводили стерильним 3ФР і обережно нашаровували на градієнт Histopaque (фірма Sigma, H8889). Після центрифугування (450 × g, 30 хв, кімнатна температура) плазму, що знаходиться над інтерфазою, що містить PBMC, відкидали й PBMC переносили в нову фальконівську пробірку, яку потім заповнювали 50 мл 3ФР. Суміш центрифугували (400 × g, 10 хв, кімнатна температура), супернатант відкидали й дебрис PBMC відмивали двічі стерильним 3ФР (стадії центрифугування при 350 × g, 10 хв). Здійснювали автоматичний підрахунок отриманої популяції PBMC (обладнання ViCell) і зберігали в середовищі RPMI1640, що містить 10 % FCS і 1 % L-аланін-L-глутаміну (фірма Biochrom, K0302) при 37°C, 5 % CO₂ в інкубаторі для клітин до подальшого використання (не більше 24 год.). Для аналізу цитолізу антитіло додавали в вказаних концентраціях (у діапазоні від 0,01 пМ до 10 нМ у трьох повторях). Додавали PBMC до клітин-мішеней у кінцевому співвідношенні Е:Т=10:1. Цитоліз клітин-мішеней оцінювали після інкубації протягом 24 год. і 48 год. при 37 °C, 5 % CO₂ шляхом кількісної оцінки вивільнення ЛДГ у клітинні супернатанти апоптозними/некротичними клітинами (набір для виявлення ЛДГ, фірма Roche Applied Science, каталожний номер 11 644 793 001). Максимальний лізис клітин-мішеней (= 100 %) досягався при інкубації клітин-мішеней у присутності 1 % Тритону Х-100. Мінімальний лізис (= 0 %) відповідав лізису при спільній інкубації клітин-мішеней з ефекторними клітинами без біспецифічних конструкцій.

Результати свідчать про те, що рівень лізису пухлини, індукований FolR1-зв'язувальними агентами із проміжною афінністю (TCB 6E10, TCB 14B1 і TCB 9C7) знаходиться між рівнями, отриманими для TCB 16D5, що має високу афінність, й TCB 36F2, що має низьку афінність (фіг. 36А-Е). Серед FolR1-зв'язувальних агентів, що мають проміжну афінність, TCB 14B1 індукувала найбільш сильний цитоліз після інкубації протягом 48 год. (фіг. 36Г-Е). Величини EC₅₀, розраховані за результатами аналізу цитолізу після інкубації протягом 24 год. і 48 год. за допомогою програми GraphPadPrism6, представлено в таблиці 49 і таблиці 50.

Таблиця 49: Величини EC₅₀ (пМ), що характеризують опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HeLa, SKOV-3 і HT-29, індукований анти-FolR1 TCB із проміжною афінністю після інкубації протягом 24 год.

	EC ₅₀ [пМ]		
Антитіло	HeLa	SKOV-3	HT-29
TCB 6E10	6,5	n.d.	*n.d.
TCB 14B1	8,5	30,1	*n.d.
TCB 9C7	2,8	741,4	*n.d.
TCB 16D5	2,2	1,5	*n.d.
TCB 36F2	31,1	*n.d.	*n.d.

* не визначали

Таблиця 50: Величини EC₅₀ (пМ), що характеризують опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HeLa, SKOV-3 і HT-29, індукований анти-FolR1 TCB із проміжною афінністю після інкубації протягом 48 год.

	EC ₅₀ [пМ]		
Антитіло	HeLa	SKOV-3	HT-29
TCB 6E10	2,1	2164,0	*n.d.
TCB 14B1	5,5	4,7	397,7
TCB 9C7	4,3	519,6	*n.d.
TCB 16D5	2,3	*n.d.	4,9
TCB 36F2	10,5	*n.d.	n.d.

* не визначали

Приклад 53

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HeLa, SKOV-3 і HT-29, індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю (TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5-G49S/K53A, TCB 16D5 W96Y, TCB 16D5 W96Y/D52E), оцінювали на клітинах HeLa (високий рівень FolR1), SKOV-3 (середній рівень FolR1) і HT-29 (низький рівень FolR1). TCB 16D5 і TCB 36F2 включали як еталони. Аналіз здійснювали згідно з методом, описаним вище (приклад 52).

Результати свідчать про те, що рівень лізису пухлини, індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю (TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5-G49S/K53A, TCB 16D5 W96Y, TCB 16D5 W96Y/D52E), знаходився між рівнями, отриманими для TCB 16D5, що має високу афінність, й TCB 36F2, що має низьку афінність. Величини EC_{50} , розраховані за результатами аналізу цитолізу після інкубації протягом 24 год. і 48 год. за допомогою програми GraphPadPrism6, представлено в таблиці 51 і таблиці 52 (фіг. 37A-E).

Таблиця 51: Величини EC_{50} (нМ), що характеризують опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HeLa, SKOV-3 і HT-29, що експресують FolR1, індукований TCB 16D5 і її варіантами зі зниженою афінністю після інкубації протягом 24 год.

Антитіло	EC_{50} [нМ]		
	HeLa	SKOV-3	HT-29
TCB 16D5	2,2	1,5	*n.d.
TCB 16D5-G49S/S93A	2,3	430,4	*n.d.
TCB 16D5-G49S/K53A	4,4	1701,9	*n.d.
TCB 16D5 W96Y	3,0	164,5	*n.d.
TCB 16D5 W96Y/D52E	1,3	235,4	*n.d.
TCB 36F2	31,1	*n.d.	*n.d.

* не визначали

Таблиця 52: Величини EC_{50} (нМ), що характеризують опосередковуваний Т-клітинами цитоліз клітин HeLa, SKOV-3 і HT-29, що експресують FolR1, індукований TCB 16D5 і її варіантами зі зниженою афінністю після інкубації протягом 48 год.

Антитіло	EC_{50} [нМ]		
	HeLa	SKOV-3	HT-29
TCB 16D5	2,3	0,1	4,9
TCB 16D5-G49S/S93A	0,9	95,9	99,3
TCB 16D5-G49S/K53A	0,5	950,4	1790,7
TCB 16D5 W96Y	1,8	24,7	99,3
TCB 16D5 W96Y/D52E	0,9	93,0	399,4
TCB 36F2	10,5	968,5	*n.d.

* не визначали

Таким чином, як і описана вище анти-FOLR1 TCB 36F2, TCB 16D5 W96Y/D52E розрізняє клітини з високим і низьким рівнем експресії, що є особливо важливим з погляду зниження токсичності, оскільки клітини деяких здорових неканцерогенних тканин характеризуються дуже низькими рівнями експресії FolR1 (менше, ніж приблизно 1000 копій на клітину). Із цими даними узгоджуються результати, обговорені в наведеному нижче прикладі 54, які свідчать про те, що TCB 16D5 W96Y/D52E індукує набагато більш низькі рівні опосередкованого Т-клітинами цитолізу первинних клітин (фіг. 38A-E) у порівнянні з батьківською TCB 16D5. По суті, TCB 16D5 W96Y/D52E опосередковує ефективне знищення пухлинних тканин, що характеризуються високим або середнім рівнем експресії FOLR1, але не здорових тканин, що характеризуються низьким рівнем експресії. TCB 16D5 W96Y/D52E у двовалентному форматі "2+1" містить FolR1-зв'язувальні фрагменти, що мають відносно низьку афінність, але вона характеризується ефектом авідності, який дозволяє розрізняти клітини з високим і низьким рівнем експресії FolR1. Оскільки пухлинні клітини характеризуються високими або проміжними рівнями експресії FolR1, то вказана TCB вибірково зв'язується з пухлинними клітинами, але не зі здоровими неканцерогенними клітинами, які характеризуються низькими рівнями експресії FolR1 або повною її відсутністю. Додатковою перевагою TCB 16D5 W96Y/D52E у порівнянні з описаною вище анти-FOLR1 TCB 36F2, є те, що вона специфічно зв'язується з FolR1, але не з FolR2 або FolR3, що додатково підвищує її безпеку при лікуванні *in vivo*.

Крім описаних характеристик, що вище дають перевагу, TCB 16D5 W96Y/D52E у двовалентному форматі "2+1 інвертована" має також перевагу, що полягає у тому, що для її одержання не потрібно застосовувати хімічне перехресне зшивання або інший заснований на гібридизації підхід. Це робить її придатною для приготування лікарського засобу для лікування пацієнтів, наприклад, пацієнтів, що мають FolR1-позитивні ракові пухлини. TCB 16D5 W96Y/D52E у двовалентному форматі "2+1 інвертована" можна одержувати з низьким вмістом агрегатів за допомогою стандартних заснованих застосуванні CHO процесів. Крім того, TCB 16D5 W96Y/D52E у двовалентному форматі 2+1 містить людські й гуманізовані послідовності,

тобто вона має перевагу в порівнянні з молекулами, у яких застосовують щурячі й мишині поліпептиди, що мають високу імуногенність при введенні людині. Крім того, TCB 16D5 W96Y/D52E у двовалентному форматі 2+1 сконструйована так, щоб елімінувати зв'язування з FcγR, і тому вона не викликає перехресного зшивання з FcγR і реакцій на інфузію, що ще більш підвищує її безпеку при введенні пацієнтам.

Описані вище результати демонструють, що завдяки своїй конфігурації "голова-до хвоста" TCB 16D5 W96Y/D52E у двовалентному форматі "2+1 інвертована" є високо ефективною молекулою, яка індукує повний цитоліз клітин-мішеней. Двовалентність підвищує її авідність і ефективність, але також забезпечує здатність розрізняти клітини з високим і низьким рівнем експресії. Її вибірковість відносно клітин з високим або середнім рівнем експресії, обумовлена її авідністю, приводить до зниження токсичності, що викликається опосередкованим Т-клітинами цитолізом здорових клітин, що характеризуються низькими рівнями експресії FcγR1.

Ще однією перевагою TCB 36F2 у двовалентному форматі "2+1" і інших варіантів здійснення винаходу, представлених у даному описі, є те, що їх створення для клінічного застосування не вимагає використання сурогатних молекул, оскільки вони зв'язуються з FcγR1 людини й мавп циномологус. Представлені в даному описі молекули самі по собі розпізнають епітоп, відмінний від епітопу, що розпізнається раніше описаними антитілами до FcγR1, які не розпізнають FcγR1 обох видів (див. також фіг. 41).

Приклад 54

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз первинних клітин, індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю й TCB із проміжною афінністю до FcγR1

Опосередковуваний Т-клітинами цитоліз, індукований варіантами 16D5 зі зниженою афінністю (TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5 W96Y/D52E) і FcγR1-зв'язувальною молекулою TCB 14B1 із проміжною афінністю, оцінювали на первинних клітинах (людські клітини кортикального ниркового епітелію (HRCepIC) (фірма ScienCell Research Laboratories; каталожний номер 4110) і людські клітини ретинального пігментного епітелію (HREpIC) (фірма ScienCell Research Laboratories; каталожний номер 6540)). Клітини HT-29 (низький рівень FcγR1) включали як контрольну клітинну лінію. TCB 16D5 і TCB 36F2 включали в якості еталонів, а TCB DP47 служила як незв'язувальний контроль.

Аналіз проводили згідно з методом, описаним у прикладі 52, у діапазоні концентрацій антитіл 0,1 пМ-100 нМ (у трьох повторях).

Коли як мішені використовують людські первинні клітини, то загальний лізис виявляється набагато менше внаслідок більш низького рівня експресії FcγR1 на цих клітинах (фіг. 38A-E). У випадку FcγR1-зв'язувальної молекули TCB 16D5, що має високу афінність, виявилось можливим виявити опосередковуваний Т-клітинами лізис обох типів первинних клітин. Як раніше встановлено, коли як мішені використовують пухлинні лінії клітин, то рівень лізису, індукований FcγR1-зв'язувальною молекулою TCB 14 B1 із проміжною афінністю й варіантами 16D5 зі зниженою афінністю (TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5 W96Y/D52E), знаходиться між рівнями, індукованими TCB 16D5 с високою афінністю й TCB 36F2 с низькою афінністю. Значимо знижений рівень лізису клітин, що характеризуються низькими рівнями експресії FcγR1, узгоджується з низькою нецільовою активністю й, таким чином, слід очікувати, що варіанти 16D5 TCB 16D5-G49S/S93A і TCB 16D5 W96Y/D52E, , що мають знижену афінність, повинні добре переноситися *in vivo*.

Приклад 55

Однодозове дослідження ФК конструкцій FcγR1-TCB на самках мишей лінії NOG

Самок мишей лінії NOD/Shi-scid/IL-2R^γnull (NOG) віком 6-7 тижнів при початку експерименту (вирощених на фірмі Taconic в Sørp-віварії (в умовах, вільних від специфічних патогенів), Данія) утримували в умовах, вільних від специфічних патогенів, при добових циклах 12 год. світла/12 год. темряви згідно із відповідним посібником (Gv-Solas; Felasa; TierschG). Протокол експериментального дослідження був розглянутий і схвалений місцевим урядовим органом (ZH193/2014). Після доставки тварин витримували протягом 1 тижня для того, щоб вони могли звикнути до нових умов, і для обстеження. На регулярній основі здійснювали постійний моніторинг стану здоров'я.

Однодозове фармакокінетичне дослідження (SDPK) проводили для оцінки експозиції конструкцій FcγR1-TCB (36F2, 16D5, 16D5 G49S/S93A і 16D5 W96Y/D52E). Їх вводили NOG-мишам шляхом болюсного *i.v.*-введення з розрахунку 0,5 мг/кг і брали зразки крові в певні моменти часу для оцінки фармакокінетичних характеристик. Зразки мишиної сироватки аналізували за допомогою ELISA. Поетапно додавали біотинізовану конструкцію α-huCD3-CDR (mAb<ID-mAb<CD3>>M-4.25.93-IgG-Bi), тестовані зразки, мічене дигоксигеніном α-huFc-антитіло (mAb<H-FC rap>M-R10Z8E9-igg-dig) і ідентифікуюче антитіло до дигоксигеніну (POD) в 96-

лунковий стрептавідиновий титраційний мікропланшет і інкубували після кожного етапу протягом 1 год. при кімнатній температурі. Планшет тричі промивали після кожної стадії для видалення незв'язаних субстанцій. На завершення візуалізували зв'язаний з пероксидазою комплекс шляхом додавання розчину субстрату ABTS для одержання пофарбованого продукту реакції. Інтенсивність фарбування продукту реакції, яку визначали фотометрично при 405 нм (довжина референс-хвилі 490 нм), пропорційна концентрації аналіту в зразку сироватки. Калібрований діапазон стандартної кривої для конструкцій становив 0,078-5 нг/мл, при цьому нижня межа кількісної оцінки (LLOQ) дорівнював 1,5 нг/мл.

SDPK-дослідження виявило IgG-подібний ФК-профіль для конструкцій 16D5, 16D5 W96Y/D52E і 16D5 G49S/S93A (фіг. 39А-Б). Внаслідок цього для дослідження ефективності був вибраний графік, що передбачає проведення вимірювань один раз на тиждень (фіг. 40Б). Час напівжиття 36F2 був менший, ніж час напівжиття інших клонів. 36F2 виявився єдиною із чотирьох протестованих молекул, яка мала крос-реактивність до мишиного FOLR1, що може пояснити менший час напівжиття цієї молекули, і який вказує на те, що має місце TMDD (опосередкований мішенню розподіл лікарського засобу (Target Mediated Drug Disposition)).

Приклад 56

Ефективність *in vivo* конструкцій FOLR1-TCB (16D5, 16D5 G49S/S93A і 16D5 W96Y/D52E) після переносу людських PBMC у несучих клітини HeLa NOG-мишей

Конструкції FOLR1-TCB тестували на NOG-мишах із трансплантованими шляхом s.c.-ін'єкції людськими клітинами раку шийки матки лінії HeLa, що експресують FOLR1, яким вводили PBMC.

Клітини лінії HeLa спочатку одержували з ATCC (CCL2) і після розмноження депонували у внутрішньому банку клітин фірми Roche-glycart. Лінію пухлинних клітин культивували згідно зі стандартною процедурою в середовищі RPMI, що містить 10 % FCS (фірма Gibco) при 37 °C у насиченій водяною парою атмосфері, що містить 5 % CO₂. Для трансплантації використовували пасаж 13 з життєздатністю > 95 %. Вводили шляхом s.c.-ін'єкції в правий бік тварин по 1×10⁶ клітин/тварину в загальному об'ємі 100 мкл середовища для клітинної культури RPMI (фірма Gibco).

60 самок мишей лінії NOG віком 6-7 тижнів при початку експерименту (вирощених на фірмі Taconic, Данія) утримували в умовах, вільних від специфічних патогенів, при добових циклах 12 год. світла/12 год. темряви згідно із відповідним посібником (Gv-Solas; Felasa; TierschG). Протокол експериментального дослідження був розглянутий і схвалений місцевим урядовим органом (ZH193/2014). Після доставки тварин витримували протягом 1 тижня для того, щоб вони могли звикнути до нових умов, і для обстеження. На регулярній основі здійснювали постійний моніторинг стану здоров'я.

Відповідно до протоколу (фіг. 40Б), мишам вводили шляхом s.c.-ін'єкції в день досліду 0 по 1×10⁶ клітин лінії HeLa. У день досліду 30, коли розмір пухлини досягав приблизно 150 мм³, виділяли людські PBMC здорового донора за допомогою методу із застосуванням Фікол і вводили 10×10⁶ клітин шляхом i.p.-ін'єкції мишам, що мають пухлину. Через два дні (день 32) мишей рандомізували й рівномірно розділяли на шість груп обробки (n=10), після чого вводили шляхом i.v.-ін'єкції 16D5 (0,5 мг/кг), або 16D5 G49S/S93A (2,5 або 0,5 мг/кг), або 16D5 W96Y/D52E (2,5 або 0,5 мг/кг). Ін'єкції у всіх групах обробки здійснювали один раз на тиждень у цілому протягом 3 тижнів. Мишам вводили шляхом i.v.-ін'єкції відповідний розчин в об'ємі 200 мкл. Мишам у групі, оброблюваної наповнювачем, ін'єкували 3ФР. Для одержання потрібної кількості TCB на 200 мкл маточні розчини при необхідності розводили 3ФР. Ріст пухлини оцінювали один раз у тиждень шляхом вимірювання за допомогою кронциркуля (фіг. 40В-Д) і об'єм пухлини розраховували по наступній формулі:

$$Tv: (W^2/2) \times L \text{ (W: ширина, L: довжина)}$$

Введення FOLR1-TCB шляхом ін'єкції один раз на тиждень приводило до значимого регресу пухлини (фіг. 40В-Д). Ефективність 16D5 (0,5 мг/кг) і 16D5 W96Y/D52E 16D5 (0,5 мг/кг) виявилася порівнянною, у той час як ефективність 16D5 G49S/S93A (0,5 мг/кг) була небагато менше. Більш високі дози, а саме 2,5 мг/кг, 16D5 W96Y/D52E 16D5 і 16D5 G49S/S93A не приводили до підвищення ефективності в порівнянні з дозами 0,5 мг/кг. Для одержання Фк-даних мишей умертвляли в день досліду 52, пухлини вилучали, зважували й готували суспензії одиничних клітин за допомогою ферментативного розщеплення з використанням колагенази V, диспази II і Днкази для наступного FACS-аналізу. Експлантовані пухлини у всіх групах обробки в день закінчення досліду мали значиме меншу масу в порівнянні з масою пухлин у контрольній групі, обробленої наповнювачем (фіг. 40Е). Суспензії одиничних клітин пухлин фарбували для виявлення huCD45 і huCD3 і DAPI для виключення загиблих клітин і аналізували на фірмі BD Fortessa. FACS-аналіз виявив статистично більші кількості інфільтрованих CD3-позитивних

людських Т-клітин у пухлинній тканині після обробки 16D5, а також 16D5 W96Y/D52E16D5, у порівнянні з пухлинами в контрольній групі, обробленої наповнювачем (фіг. 40В).

Приклад 57

Дослідження токсичності на мавпах циномоглус

- 5 Проводили дослідження фармакокінетичних характеристик (ФК), фармакодинамічних характеристик (ФД) і переносимості для вивчення переносимості, впливів на ФК і ФД
- однократної дози, що вводиться внутрішньовенно, варіантів TCB 16D5 зі зниженою афінністю (наприклад, TCB 16D5-G49S/S93A, TCB 16D5 W96Y/D52E) на мавпах циномоглус. У цьому
- 10 досліді наївним мавпам циномоглус (1 самець і 1 самка мавпи/групу), вводили шляхом однократної внутрішньовенної ін'єкції дозу варіантів TCB 16D5 зі зниженою афінністю, включаючи TCB 16D5 W96Y/D52E, згідно із протоколом підвищення доз. Прикладами рівнів доз були 0,003, 0,03 і 0,09 мг/кг. Оцінювали стандартні параметри токсичності (клінічні ознаки, вага тіла, гематологічні й клінічні хімічні показники) і кінетику кількості й статусу активації Т-клітин у
- 15 крові й кінетику вивільнення цитокінів. Брали також зразки крові для ФК-аналізу протягом періоду, що становив 28 днів, для аналізів варіантів TCB 16D5 зі зниженою афінністю, включаючи TCB 16D5 W96Y/D52E, і антитіл до лікарського засобу.

Амінокислотні послідовності для представлених як приклад варіантів здійснення винаходу

- 1) FolR-зв'язувальні агенти, придатні для застосування у форматі із загальним легким ланцюгом, варіабельний важкий ланцюг

20

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
16A3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNYYA GVTPFDYWGGGTLTVSS	1
18D3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNYYTG GSSAFDYWGQGTTLTVSS	2
15H7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNYYLF STSFIDYWGGGTLTVSS	3
15B6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNYYIGI VPFDYWGGGTLTVSS	4
21D1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNYYV GVSPFDYWGGGTLTVSS	5
16F12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNFTVL RVPFDYWGGGTLTVSS	6
15A1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARNYYIG VVTFDYWGGGTLTVSS	7
15A1_CDR1	SYMH	8
15A1_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
15A1_CDR3	NYYIGVVTFDY	10
19E5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARGEW RYTSFDYWGGGTLTVSS	11
19E5_CDR1	SYMH	8
19E5_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
19E5_CDR3	GEWRRYTSFDY	12

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
19A4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARGGWI RWEHFDYWGQGTLLTVSS	13
19A4_CDR1	SYMH	8
19A4_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
19A4_CDR3	GGWIRWEHFDY	14
16D5	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRI KSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWE WSYFDYWGQGTLLTVSS	15
16D5_CDR1	NAWMS	16
16D5_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
16D5_CDR3	PWEWSYDY	18
15E12	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRI KSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWE WSYFDYWGQGTLLTVSS	19
15E12_CDR1	NAWMS	16
15E12_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
15E12_CDR3	PWEWSYFDY	20
21A5	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRI KSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWE WAWFDYWGQGTLLTVSS	21
21A5_CDR1	NAWMS	16
21A5_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
21A5_CDR3	PWEWAWFDY	22
21G8	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRI KSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWE WAYFDYWGQGTLLTVSS	23
21G8_CDR1	NAWMS	16
21G8_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
21G8_CDR3	PWEWAYFDY	24
19H3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARTGWS RWGYMDYWGQGTLLTVSS	25
19H3_CDR1	SYMH	8
19H3_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
19H3_CDR3	TGWSRWGYMDY	26

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
20G6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRTMTTRDTSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARGEWIR YYHFDYWGGGTLTVSS	27
20G6_CDR1	SYMH	8
20G6_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
20G6_CDR3	GEWIRYYHFDY	28
20H7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGII NPSGGSTSYAQKFQGRTMTTRDTSTSTVYMESSLRSED TAVYYCARVGVY RWGYMDYWGGGTLTVSS	29
20H7_CDR1	SYMH	8
20H7_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
20H7_CDR3	VGWYRWGYMDY	30

2) CD3-зв'язувальний агент, загальний легкий ланцюг (CLC)

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
CD3-зв'язувальний агент, загальний легкий ланцюг (VL)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGA QPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	31
CD3-зв'язувальний агент, загальний легкий ланцюг_CDR1	GSSTGAVTTSNYAN	32
CD3-зв'язувальний агент, загальний легкий ланцюг_CDR2	GTNKRAP	33
CD3-зв'язувальний агент, загальний легкий ланцюг_CDR3	ALWYSNLWV	34
CD3-зв'язувальний агент, загальний легкий ланцюг (VLCL)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGA QPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTSPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS	35

3) CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг

Опис	Послідовність	Seq ID No
CD3-зв'язувальний агент, варіабельний важкий ланцюг (VH)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSTYAMNWVRQ APGKGLEWVSRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQ GTLTVSS	36
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH)_CDR1	TYAMN	37
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH)_CDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	38

Опис	Послідовність	Seq ID No
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH)_CDR3	HGNFGNSYVSWFAY	39
CD3-зв'язувальний агент, повнорозмірний важкий ланцюг (VHCH1)_	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSTYAMNWVRQ APGKGLEWVSRI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKN TLYLQMN SLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	40
CD3-зв'язувальний агент, константна ділянка важкого ланцюга, CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	84

4) FoIR-зв'язувальні агенти, які можна застосовувати для Crossfab-формату

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
11F8_VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARAVFYRAWYSFDYWGGGTTTVTVSS	41
11F8_VH_CDR1	SYAIS	42
11F8_VH_CDR2	GIPIFGTANYAQKFQG	43
11F8_VH_CDR3	AVFYRAWYSFDY	44
11F8_VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYDASSLES GVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQQY TSPPTFGQGTKVEIK	45
11F8_VL_CDR1	RASQSISSWLA	46
11F8_VL_CDR2	DASSLES	47
11F8_VL_CDR3	QQYTSPPT	48
36F2_VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMH WVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTHTDSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAR SFFTGFHLDY WGQGT LVTVSS	49
36F2_VH_CDR1	SYMH	8
36F2_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
36F2_VH_CDR3	SFFTGFHLDY	50
36F2_VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ YTNEHYT FTFGQGT KVEIK	51
36F2_VL_CDR1	RASQSVSSSYLA	52
36F2_VL_CDR2	GASSRAT	53
36F2_VL_CDR3	QQYTNEHYT	54
9D11_VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMH WVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGPTSYAQKFQGRVTMT TRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARGDFAWLDYWGQGT LVTVSS	55
9D11_VH_CDR1	SYMH	8
9D11_VH_CDR2	IINPSGGPTSYAQKFQG	56
9D11_VH_CDR3	GDFAWLDY	57
9D11_VL	DIVMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLG SNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQASIMNRTFGQGT KVEIK	58
9D11_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
9D11_VL_CDR2	LGSNRAS	60
9D11_VL_CDR3	MQASIMNRT	61
9D11_VL N95S	DIVMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLG SNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQASIM SRTFGQGT KVEIK	62

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11_VL N95S_CDR3	MQASIMSRT	63
9D11_VL N95Q	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQASIMQRTFGQGTKVEIK	64
9D11_VL N95Q_CDR3	MQASIMQRT	65
9D11_VL T97A	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQASIMNRAFGQGTKVEIK	66
9D11_VL T97A	MQASIMNRA	67
9D11_VL T97N	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQASIMNRNFGQGTKVEIK	68
9D11_VL T97N_CDR3	MQASIMNRN	69
5D9_VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMH WVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCARSYIDMDYWGQGT LV TVSS	70
5D9_VH_CDR1	SY YMH	8
5D9_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQ G	9
5D9_VH_CDR3	SYIDMDY	71
5D9_VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQ DNWSPTFGQGTKVEIK	72
5D9_VL_CDR1	RASQSVSSSYLA	52
5D9_VL_CDR2	GASSRAT	53
5D9_VL_CDR3	QQDNWSPT	73
6B6_VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMH WVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCARSYVDMDYWGQGT LV TVSS	74
6B6_VH_CDR1	SY YMH	8
6B6_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQ G	9
6B6_VH_CDR3	SYVDMDY	75
6B6_VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQ DIWSPTFGQGTKVEIK	76
6B6_VL_CDR1	RASQSVSSSYLA	52
6B6_VL_CDR2	GASSRAT	53
6B6_VL_CDR3	QQDIWSPT	77
14E4_VH	EVQLLES GG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS W VVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDSSYVEWYAFDYWGQGT LV TVSS	78
14E4_VH_CDR1	SYAMS	79
14E4_VH_CDR2	AISGSGGSTYYADSVK G	80
14E4_VH_CDR3	DSSYVEWYAFDY	81
14E4_VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDSTLTISRLEPEDFAVYYC QQ PTSSPITFG QGTKVEIK	82
14E4_VL_CDR1	RASQSVSSSYLA	52
14E4_VL_CDR2	GASSRAT	53
14E4_VL_CDR3	QQPTSSPIT	83

5) CD3-зв'язувальні агенти, які можна застосовувати для crossfab-формату

Опис	Послідовність	SEQ ID NO
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWV RQAPGKGLEWVSRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWF AYWGQGTLLTVSS	36
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH) CDR1	TYAMN	37
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH) CDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	38
CD3-зв'язувальний агент, важкий ланцюг (VH) CDR3	HGNFGNSYVSWFAY	39
CD3-зв'язувальний агент, легкий ланцюг (VL)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANW VQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	31
CD3-зв'язувальний агент, легкий ланцюг CDR1	GSSTGAVTTSNYAN	32
CD3-зв'язувальний агент, легкий ланцюг CDR2	GTNKRAP	33
CD3-зв'язувальний агент, легкий ланцюг CDR3	ALWYSNLWV	34
pETR12940: схрещений загальний легкий ланцюг CD3-зв'язувального агента (VLCH1)	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANW VQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	86
схрещений важкий ланцюг CD3-зв'язувального агента (VHC $\square$); наприклад, в pCON1057	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWV RQAPGKGLEWVSRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWF AYWGQGTLLTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	87
CD3-CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	85
CD3-Скапа	VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYFPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	88

6) Приклади амінокислотних послідовностей біспецифічних антитіл до CD3-FcR в форматі "2+1 інвертована, Crossmab"

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[9D11]_VHCL[CD3]_Fc("вис-тип") _PGLALA pCON1057	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGPTSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGDFAWL DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEW VSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLR AEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWG QGTLLTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC DKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	94
9D11_Fc9("впадина")_PGLALA_HY RF	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGPTSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGDFAWL DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	95
9D11_LC pCON1063	DIVMTQSP LSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGYN YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQASIMNRTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC	96
VLCH1[CD3] pETR12940	QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYA NWVQEKPGQAFRLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGT KLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSC	86
CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD	307

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[36F2]_VHCL[CD3]_Fc("виступ")_PGLALA pCON1056	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVT MTHDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSFFTGF HLDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGL EWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTL YLMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGLTVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV CLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	308
36F2-Fc("впадиана") PGLALA pCON1050	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVT MTHDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSFFTGF HLDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	309
36F2 LC pCON1062	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYTNEHYTFTGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHXGLSSPVTKSFNRG EC	310
CD3 VLCH1 pETR12940	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYA NWWQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGT KLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSC	86

7) Приклади амінокислотних послідовностей біспецифічних антитіл до CD3-FcR з загальним легким ланцюгом

VHCH1[16D5]_VHCH1[CD3]_Fc("виступ") pCON999	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLE WVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSN GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	89
VHCH1[16D5]_Fc("впадина") pCON983	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHRTQKSLSLS PGK	90
CD3_загальний легкий ланцюг pETR13197	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAIFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGS TVEKTVAPTECS	35
VHCH1[CD3]_VHCH1[16D5]_Fc("виступ")_PGLALA pETR13932	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPG KGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSN GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	91

CD3_Fc("виступ")_PGLALA pETR13917	EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	92
Fc_*»впадина*)_PGLALA_HY RF pETR10755	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNRTQKSLSLSPGK	93
VHCL[CD3]_Fc("виступ")_PG LALA pETR13378	EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	98
16D5, інвертована, 2+1 3 N100A в CDR H3 pETR14096	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLE WVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	99

16D5, інвертована, 2+1 з S100aA в CDR H3 pETR14097	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLLTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLE WWSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRHGNFGNAYVSWFAYWGQGTLLTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLW CLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	100
CD3-зв'язувальний агент, легкий ланцюг, злитий з CH1; Fc_PGLALA; pETR13862	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAIFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFIYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	101
16D5, VH, злитий з константним капа-ланцюгом; pETR13859	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLLTVS SASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	102
CD3, VH, злитий з константним лямбда- ланцюгом; pETR13860	EVQLLESAGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLL TVSSASPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSIRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	103
IGHV1-46*01 (X92343), плюс JH4-елемент	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTDRDSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGGSGGSFDYWGGQGTLLTVSS	104
IGHV1-69*06 (L22583), плюс JH6-елемент	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA PGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARGGSGGSMDAWGQGTLLTVSS	105
IGHV3-15*01 (X92216), плюс JH4-елемент	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTGSGSGSFDYWGGQGTLLTVSS	106
IGHV3-23*01 (M99660), плюс JH4-елемент	EVQLLESAGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKGGSGGSFDYWGGQGTLLTVSS	107
IGHV4-59*01 (AB019438), плюс JH4-елемент	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWVWIRQPP GKGLEWIGIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGGSFDYWGGQGTLLTVSS	108
IGHV5-51*01 (M99686), плюс JH4-елемент	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGSYSTSYWIGWVRQM PGKGLEWMGIIPGDSDFRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARGGSGGSFDYWGGQGTLLTVSS	109
CD3-специфічне антитіло, сконструйоване на основі гуманізованого легкого ланцюга CH2527	QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAIFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL	110

hVK1-39 (JK4 J-елемент)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTFGGGTKEIK	111
VL7_46-13 (гумаізований легкий ланцюг антитіла до CD3)	QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	112

8) Приклади варіантів 16D5 з пониженою афінністю

а. Приклади варіантів легкого ланцюга з пониженою афінністю

5

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
K53A AK	QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQ APRGLIGGTNARAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVL	113
K53A_VL_CDR1	GSSTGAVTTSNYAN	32
K53A_VL_CDR2	GTNARAP	311
K53A_VL_CDR3	ALWYSNLWV	34
AK S93A	QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CALWYANLWVFGGGTKLTVL	114
S93A_VL_CDR1	GSSTGAVTTSNYAN	32
S93A_VL_CDR2	GTNKRAP	33
S93A_VL_CDR3	ALWYANLWV	312

б. Приклади варіантів важкого ланцюга з пониженою афінністю

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
AK S35H	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVSSAS	115
S35H_VH_CDR1	NAWMH	313
S35H_VH_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
S35H_VH_CDR3	PWEWSWYDY	18
AK G49S	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVSRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVSSAS	116
G49S_VH_CDR1	NAWMS	16
G49S_VH_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
G49S_VH_CDR3	PWEWSWYDY	18
AK R50S	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGSIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVSSAS	117
R50S_VH_CDR1	NAWMS	16
R50S_VH_CDR2	SIKSKTDGGTTDYAAPVKG	314
R50S_VH_CDR3	PWEWSWYDY	18
AK W96Y	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPYEWSWYDYWGQGLTVTVSSAS	118
W96Y_VH_CDR1	NAWMS	16
W96Y_VH_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17
W96Y_VH_CDR3	PYEWSWYDY	315
AK W98Y	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEYSWYDYWGQGLTVTVSSAS	119
W98Y_VH_CDR1	NAWMS	16
W98Y_VH_CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG	17

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
W98Y_VH_CDR3	PWEYSWYDY	232

9) Додаткові приклади варіантів здійснення винаходу, створених з використанням фагової дисплейної бібліотеки (CDR підкреслені)

Позначення	Послідовність	SEW ID NO:
AK 90D7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY ^Y MHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME ^L SSLRS EDTAVYYCARNY ^T IVVSPFDYWGQGT ^L TVTVSSAS	120
90D7_VH_CDR1	SY ^Y MHW	8
90D7_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQ ^G	9
90D7_VH_CDR3	NYTIVVSPFDY	233
AK 90C1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY ^Y MHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME ^L SSLRS EDTAVYYCARNYFIGSVAMDYWGQGT ^L TVTVSSAS	121
90C1_VH_CDR1	SY ^Y MHW	8
90C1_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQ ^G	9
90C1_VH_CDR3	NYFIGSVAMDY	234
AK 5E8 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY ^Y MHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME ^L SSLRS EDTAVYYCARG ^L TY ^S MDYWGQGT ^L TVTVSSAS	122
5E8_VH_CDR1	SY ^Y MHW	8
5E8_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQ ^G	9
5E8_VH_CDR3	GLTY ^S MDY	235
AK 5E8 VL	DIVMTQSP ^L SLPVTGPGEPA ^S ISCR ^S SSQ ^L LLHSNGY ^N YLDWYLQKPG QSPQLLIY ^L G ^S NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQALQIPNTFGQGT ^K VEIKRT	123
5E8_VL_CDR1	RSSQ ^L LLHSNGY ^N YLD	59
5E8_VL_CDR2	LGSN ^R AS	60
5E8_VL_CDR3	MQALQIPNT	236
AK 12A4 VH	EVQLLES ^G GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY ^A MSWVRQAPGK LEWVSAISGSGGSTY ^A ADSVKGRFTISRDN ^S KN ^T LYLQMNSLRAE DTAVYYCAKYAYALDYWGQGT ^L TVTVSSAS	124
12A4_VH_CDR1	SY ^A MS	79
12A4_VH_CDR2	AISGSGGSTY ^A ADSVK ^G	80
12A4_VH_CDR3	YAYALDY	237
AK 12A4 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA ^W YQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ ^Q H GSSSTFGQGT ^K VEIKRT	125
12A4_VL_CDR1	RASQSVSSSYLA	52
12A4_VL_CDR2	GASSRAT	53
12A4_VL_CDR3	QQHGSSST	238
AK 7A3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY ^Y MHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME ^L SSLRS EDTAVYYCARGDFSAGRLMDYWGQGT ^L TVTVSSAS	126
7A3_VH_CDR1	SY ^Y MHW	8
7A3_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQ ^G	9
7A3_VH_CDR3	GDFSAGRLMDY	239
AK 7A3 VL	DIVMTQSP ^L SLPVTGPGEPA ^S ISCR ^S SSQ ^L LLHSNGY ^N YLDWYLQKPG QSPQLLIY ^L G ^S NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQALQTPPITFGQGT ^K VEIKRT	127
7A3_VL_CDR1	RSSQ ^L LLHSNGY ^N YLD	59
7A3_VL_CDR2	LGSN ^R AS	60
7A3_VL_CDR3	MQALQTPPIT	240

Позначення	Послідовність	SEW ID NO:
AK 6E10 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMH WVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRS EDTAVYYCARGDYNAFDYWGHTLVTVSSAS	128
6E10_VH_CDR1	SYMH	8
6E10_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
6E10_VH_CDR3	GDYNAFDY	241
AK 6E10 VL	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQAWHSPTFGQGTKVEIKRT	129
6E10_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
6E10_VL_CDR2	LGSNRAS	60
6E10_VL_CDR3	MQAWHSPT	242
AK 12F9 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMH WVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRS EDTAVYYCARGATYTMDYWGQGTTLTVSSAS	130
12F9_VH_CDR1	SYMH	8
12F9_VH_CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG	9
12F9_VH_CDR3	GATYTMDY	243
AK 12F9 VL	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQALQTPITFGQGTKVEIKRT	131
12F9_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
12F9_VL_CDR2	LGSNRAS	60
12F9_VL_CDR3	MQALQTPIT	244

10) Глікозиловані варіанти 9D11: варіабельний легкий ланцюг представлених як приклади варіантів здійснення винаходу (CDR підкреслені)

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
N95S	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQ SPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QASIMSRTFGQGTKVEIK	132
12F9_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
12F9_VL_CDR2	LGSNRAS	60
12F9_VL_CDR3	MQASIMSRT	63
N95Q	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQ SPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QASIMQRTFGQGTKVEIK	133
N95Q_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
N95Q_VL_CDR2	LGSNRAS	60
N95Q_VL_CDR3	MQASIMQRT	65
T97A	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQ SPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QASIMNRAFGQGTKVEIK	134
T97A_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
T97A_VL_CDR2	LGSNRAS	60
T97A_VL_CDR3	MQASIMNRA	67
T97N	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQ SPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QASIMNRNFGQGTKVEIK	135
T97N_VL_CDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	59
T97N_VL_CDR2	LGSNRAS	60
T97N_VL_CDR3	MQASIMNRN	69

11) Варіанти з видаленими сайтами деамідування

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5 VH_D52dE	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTEGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSS	248
16D5 VH_D52dQ	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTQGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSS	249
CD3_VH N100A	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKG LEWVSRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGTLVTVSS	250
CD3_VH S100aA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKG LEWVSRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGNAYVSWFAYWGQGTLVTVSS	251
16D5 [VHCH1]- CD3[VHCH1-N100A]- Fc("виступ")_PGLALA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DGGGGSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVSRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	252
16D5-Fc("впадина")- PGLALA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNRYTQKSLSLSP GK	253
CD3-CLC	QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQ AFRGLIGGTNKRAGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	254

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5 [VHCH1]- CD3[VHCH1-S100aA]- Fc("виступ")_PGLALA	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCTTPWEWSWYDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DGGGGSGGGGSEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNAYVSWFAYWGQGLTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	255
9D11 [VHCH1]- CD3[VHCL-N100A]- Fc("виступ")_PGLALA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGPTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR EDTAVYYCARGDFAWLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDG GGGSGGGGSEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVS SASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	256
9D11-Fc("впадина")	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGPTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR EDTAVYYCARGDFAWLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDEL TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	257
9D11_LC [N95Q]	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQASIMQRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	258
CD3_VLCH1	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQ AFRGLIGGTNKRAGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	259

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11 [VHCH1]-CD3[VHCH1-S100aA]-Fc("виступ")_PGLALA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGPTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCARGDFAWLDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNAYVSWFAYWGQGTLLTVS SASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	260

12) Представлені як приклади варіанти TCB на основі Mov19 (CDR підкреслені)

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
pETR11646 Mov19 VH-CH1-Fc(«впадина») PG/LALA	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYSTGYFMNWVKQSHGKSLEWIGRIHPYDGDTFYNQNFKD KATLTVDKSSNTA HMELLSTLSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTITVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	136
pETR11647 Mov19 VH-CH1-CD3 VH-CL-Fc(«виступ») PG/LALA	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYSTGYFMNWVKQSHGKSLEWIGRIHPYDGDTFYNQNFKD KATLTVDKSSNTA HMELLSTLSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTITVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSILYLQMN NLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVS AASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	137
pETR11644 Mov19 LC	DIETQSPASLAVSLGQRAISCKASQSVSFAGTSLMHWHYH QKPGQQPKLLIYRASNL EAGVPTRFSGSGSKTDFTLNIHPV EEEDAATYYCQQSREYPYTFGGG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	138

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
Hu IgG1 Fc	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS	245
	CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	

13) Додаткові FcR1-зв'язувальні TCB з проміжною афінністю (CDR, визначені згідно із Кеботом, підкреслені):

5

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5, варіант W96Y/D52E VH	EVQLVESGGGLV ¹ PKPGGSLRLSCAASGFTFS ² NAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTEGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPYEW ³ SWYDYWGQGT ⁴ LVTVSS	274
W96Y/D52E_VH CDR1	NAWMS	16
W96Y/D52E_VH CDR2	RIKSKTEGGTTDYAAPVKG	275
W96Y/D52E_VH CDR3	PYEW ³ SWYDY	315
16D5, варіант W96Y/D52E VL	QAVVTQEP ¹ SLTVSPGGTVTLT ² CGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGT ³ GNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEY ⁴ CALWYSNLWVFGGGTKLTVL	31
W96Y/D52E_CD3-VHCH1_Fc(«виступ»)_PGLALA pETR14945	EVQLVESGGGLV ¹ PKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTEGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPYEW ³ SWYDYWGQGT ⁴ LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT ⁵ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV ⁶ PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAEEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS	276
	CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
W96Y/D52E_Fc-(«впадина»)_PGLALA_HYRF pETR14946	EVQLVESGGGLV ¹ PKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTEGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTPYEW ³ SWYDYWGQGT ⁴ LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT ⁵ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV ⁶ PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAEEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP ⁷ PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHRTQKSLSLSPGK	277

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
14B1 VH	EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S W V R Q A P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G D Y R Y R Y F D Y W G Q G T L V T V S S	278
14B1 VL	S S E L T Q D P A V S V A L G Q T V R I T C Q G D S L R S Y Y A S W Y Q Q K P G Q A P V L V I Y G K N N R P S G I P D R F S G S S S G N T A S L T I T G A Q A E D E A D Y Y C N S R E S P P T G L V V F G G G T K L T V L	279
14B1[EE]_CD3[VLCH1]_Fc- («виступ»)_PGLALA pETR14976	EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S W V R Q A P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G D Y R Y R Y F D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V E D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D E K V E P K S C D G G G G S G G G G S Q A V V T Q E P S L T V S P G G T V T L T C G S S T G A V T T S N Y A N W V Q E K P G Q A F R G L I G G T N K R A P G T P A R F S G S L L G G K A A L T L S G A Q P E D E A E Y Y C A L W Y S N L W V F G G G T K L T V L S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E A A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L G A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P C R D E L T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K	280
14B1[EE]_Fc- («впадина»)_PGLALA pETR14977	EVQLLES G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y A M S W V R Q A P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G D Y R Y R Y F D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V E D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D E K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E A A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L G A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V C T L P P S R D E L T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L V S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K	281
14B1 LC [KK] константна ділянка лямбда- ланцюга pETR14979	S S E L T Q D P A V S V A L G Q T V R I T C Q G D S L R S Y Y A S W Y Q Q K P G Q A P V L V I Y G K N N R P S G I P D R F S G S S S G N T A S L T I T G A Q A E D E A D Y Y C N S R E S P P T G L V V F G G G T K L T V L G Q P K A A P S V T L F P P S S K K L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S	282
9C7 VH	Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y Y M H W V R Q A P G Q G L E W M G I I N P S G G S T S Y A Q K F Q G R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G D W S Y Y M D Y W G Q G T L V T V S S	283
9C7 VL	D I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A R Q T P T F G Q G T K V E I K	284

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
9C7[EE]_CD3[VLCH1]_Fc- («виступ»)_PGLALA pETR14974	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGDWSYY MDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVS PGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	285
9C7[EE]_Fc- («впадина»)_PGLALA pETR14975	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGDWSYY MDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD G VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	286
9C7 LC [RK] pETR14980	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYN YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPRDFSGSG SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQARQTPTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	316

14) Послідовності антигенів

Антиген	Послідовність	SEQ ID NO:
hu FolR1	MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMA KHHKEKPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQAHKDVS YLYRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIIQ VDQSWRKERVNLNPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHK GWNWTSGFNKCAVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWITHSYK VSNYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYAAAMSGAG PWAAPFLLSLALMLLWLLS	139

Антиген	Послідовність	SEQ ID NO:
huFolR1 ECD-AcTev-Fc(«виступ»)-Avi мітка	RIAWARTELLNVCMNAAHHKEKPGPEDKLHEQCRPWKNA CCSTNTSQAHKDVSYLRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDT CLYECSPNLGPWIIQQVDQSWRKERVNLNPLCKEDCEQWW EDCRTSYTCKSNWHKGNWNTSGFNKCAVGAACQPFHFYF PTPTVLCNEIWTHSYKVSNSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPN EEVARFYAAAMVDEQLYFQGGSPKSADKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHY TQKSLSLSPGKSGGLNDIFEAQKIEWHE	140
Fc(«впадина»)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNRTQKSLSLSPGK	141
mu FolR1	MAHLMTVQLLLLVMWMAECAQSRATRARTELLNVCMDAKH HKEKPGPEDNLHDQCSPWKTNSCCSTNTSQAHKDISYLY RFNWNHCGTMTSECKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIIQQVDQ SWRKERILDVPLCKEDCQQWWEDCQSSFTCKSNWHKGNW WSSGHNECPVGASCHPFTFYFPTSAALCEEIWSHSYKLS NYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPNNEEVARFYAEAMSGAGLH GTWPLLCSLSLVLLWVIS	142
mu FolR1 ECD-AcTev-Fc(«виступ»)-Avi-мітка	TRARTELLNVCMDAKHHKEKPGPEDNLHDQCSPWKTNSCC STNTSQAHKDISYLYRFNWNHCGTMTSECKRHFIQDTCLY ECSPNLGPWIIQQVDQSWRKERILDVPLCKEDCQQWWEDC QSSFTCKSNWHKGNWSSGHNECPVGASCHPFTFYFPTS AALCEEIWSHSYKLSNYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPNNEE VARFYAEAMVDEQLYFQGGSPKSADKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS LSLSPGKSGGLNDIFEAQKIEWHE	143
cy FolR1	MAQRMTTQLLLLWVAVVGEAQTRTARTELLNVCMNAA HHKEKPGPEDKLHEQCRPWKKNACCSTNTSQAHKDVS YLRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIIQQ VDQSWRKERVNLNPLCKEDCERWWEDCRTSYTCKSNWHK GNWNTSGFNKCPVGAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTSYK VSNYSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPNNEEVARFYAAAMSGAG PWAAPLLLALALLWLLS	144
cy FolR1 ECD-AcTev-Fc(«виступ»)-Avi-мітка	RTARARTELLNVCMNAAHHKEKPGPEDKLHEQCRPWKKNA CCSTNTSQAHKDVSYLRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDT CLYECSPNLGPWIIQQVDQSWRKERVNLNPLCKEDCEQWW EDCRTSYTCKSNWHKGNWNTSGFNKCPVGAACQPFHFYF PTPTVLCNEIWTSYKVSNSRSGSGRCIQMWFDPAQGNPN EEVARFYAAAMVDEQLYFQGGSPKSADKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHY TQKSLSLSPGKSGGLNDIFEAQKIEWHE	145

Антиген	Послідовність	SEQ ID NO:
hu FolR2	MVWKWMPLLLLLVCVATMCSAQDRTDLLNVCMDAKHHKTK PGPEDKLHDQCSPWKKNACCTASTSQELHKDTSRLYNFNW DHCGKMEPACKRHFIQDTCLEYECSPNLGPWIIQQVNSWRK ERFLDVPLCKEDCQRWWEDCHTSHTCKSNWHRGWDWTS GVNKCPCAGALCRTFESYFPTPAALCEGLWSHSYKVSNSR GSGRCIQMWFDQAQGNPNNEEVARFYAAAMHVNAGEMLHG TGGLLSLALMLQLWLLG	146
hu FolR2 ECD-AcTev- Fc(«виступ»)-Avi-мітка	TMCSAQDRTDLLNVCMDAKHHKTKPGPEDKLHDQCSPWK KNACCTASTSQELHKDTSRLYNFNWDHCGKMEPACKRHF QDTCLEYECSPNLGPWIIQQVNSWRKERFLDVPLCKEDCQR WWEDCHTSHTCKSNWHRGWDWTSGVNKCPCAGALCRTFE SYFPTPAALCEGLWSHSYKVSNSRSGSGRCIQMWFDQAQGN PNNEEVARFYAAAMHVVDEQLYFQGGSPKSADKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKSGGLNDIFEAQKIEWHE	147
hu FolR3	MAWQMMQLLLLLALVTAAGSAQPR SARARTDLLNVCMAKH HKTQPSPEDELYGQCSPWKKNACCTASTSQELHKDTSRLY NFNWDHCGKMEPTCKRHFQDSCLYECSPNLGPWIRQVNS SWRKERILNVPLCKEDCERWWEDCRTSYTCKSNWHKGWN WTSGINECPAGALCSTFESYFPTPAALCEGLWSHSFKVSNY SRGSGRCIQMWFDQAQGNPNNEEVAKFYAAAMNAGAPSRGI IDS	148
hu FolR3 ECD-AcTev- Fc(«виступ»)-Avi-мітка	SARARTDLLNVCMAKHKTQPSPEDELYGQCSPWKKNAC CTASTSQELHKDTSRLYNFNWDHCGKMEPTCKRHFQDSC LYECSPNLGPWIRQVNSWRKERILNVPLCKEDCERWWED CRTSYTCKSNWHKGWNWTSGINECPAGALCSTFESYFPT AALCEGLWSHSFKVSNYSRGSGRCIQMWFDQAQGNPNNEE VAKFYAAAMNAGAPSRGIIDSVDQLYFQGGSPKSADKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGLNDIFEAQKIEWHE	149
hu CD3 Γ	MQSGTHWRVLLGLCLLSVGWVGQDGNEMGGITQTPYKVI SGTTVILTCPOYPGSEILWQHNDKNIGGEDDKNIGSDEH LSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENC MEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTR GAGAGGRQRGQNKERPPVPNPDYEPKRGQRDLYSGLN QRR	150

15) Нуклеотидні послідовності для представлених як приклади варіантів здійснення винаходу

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
16A3	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACC GGCG CTTCCGTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTCTGCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCAACTACTACGCTGGTGTACTCCGTTTCCACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	151

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
15A1	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCAACTACTACATCGGTGTTGTTACTTTGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	152
18D3	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCAACTACTACACTGGTGGTTCTTCTGCTTTG ACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	153
19E5	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG NTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCGGTGAATGGCGTCGTTACACTTCTTTGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	154
19A4	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCGGTGGTTGGATCCGTTGGGAACATTTGAC TATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	155
15H7	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCAACTACTACCTGTTCTCTACTTCTTTGACTA TTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	156
15B6	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAGGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCAACTACTACATCGGTATCGTTCCGTTGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	157
16D5	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTTCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTGGTTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACA CCGCACTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	158

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
15E12	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTACTTCGAT TATTGGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	159
21D1	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCAACTACTACGTTGGTGTCTTCTCCGTTGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	160
16F12	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG NTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCNTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCAACTTCACTGTTCTGCGTGTTCGTTGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	161
21A5	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGGCTTGGTTGCA TTATTGGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	162
21G8	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCTTGGGAATGGGCTTACTTCGAT TATTGGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	163
19H3	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCACTGGTTGGTCTCGTTGGGGTTACATGGAC TATTGGGGGCCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	164
20G6	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCGGTGAATGGATCCGTTACTACCATTTGACT ATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	165

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
20H7	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCGTTGGTTGGTACCGTTGGGGTTACATGGAC TATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	166
11F8_VH	CAGGTGCAATTGGTGCACTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCCTCCGGAGGCACATTAGCA GCTACGCTATAAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTCG AGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGC ACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTAACCACTTACTGCAGACAAATCCACG AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCG CCGTGTATTACTGTGCGAGAGCTGTTTTCTACCGTGCTTGGTACTCT TTCGACTACTGGGGCCAAGGGACCACCGTGACCGTCTCCTCA	167
11F8_VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACCGTGTCACCATCACTTGCCGTGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCT GGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCT GATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCA GCGGCAGTGGATCCGGGACAGAATTCCTCTCACCATCAGCAGCTT GCAGCCTGATGATTTTGCACTTATTACTGCCAACAGTATACCAGCC CACCACCAACGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTCGAGATCAAG	168
36F2_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACTATTG GGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	169
36F2_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGC TCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAG GTTCACTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC AGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATAC CAACGAACATTATTATACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAATCA AA	170
9D11_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGGGT CAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	171
9D11_VL	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGG CGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCAC TCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCA GAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGT GTACCGGACCGTTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTACGT TGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGT ATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGACTTTTGGTCAAGGCACCAAGG TCGAAATTA	172

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11_VL N95S	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGG CGAACCGGCGAGCATTCTTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCAC TCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCA GAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGT GTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCAGTTTCACGT TGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGT ATGCAGGCAAGCATTATGAGCCGGACTTTTGGTCAAGGCACCAAGG TCGAAATTAAA	173
9D11_VL N95Q	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGG CGAACCGGCGAGCATTCTTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCAC TCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCA GAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGT GTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCAGTTTCACGT TGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGT ATGCAGGCAAGCATTATGAGCCGGACTTTTGGTCAAGGCACCAAGG TCGAAATTAAA	174
9D11_VL T97A	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGG CGAACCGGCGAGCATTCTTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCAC TCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCA GAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGT GTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCAGTTTCACGT TGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGT ATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGGCTTTTGGTCAAGGCACCAAGG TCGAAATTAAA	175
9D11_VL T97N	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGG CGAACCGGCGAGCATTCTTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCAC TCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCA GAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGT GTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCAGTTTCACGT TGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGT ATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGAATTTTGGTCAAGGCACCAAGG TCGAAATTAAA	176
5D9_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAAACCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCTCTTACATCGACATGGACTATTGGGGTCAAG GCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	177
5D9_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGC TCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGGCACTGGCATCCCAGACAG GTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC AGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGATAA CTGGAGCCCAACGTTCCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAATCAAA	178
6B6_VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAAACCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTACTACTGTGCACGCTCTTACGTTGACATGGACTATTGGGGTCAAG GCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	179

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
6B6_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTACCTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGC TCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC AGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGGATAT TTGGAGCCCAACGTTCCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAAATCAAA	180
14E4_VH	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGG GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAGCA GTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGG AGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGC AGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG AACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGG CCGTATATTACTGTGCGAAAGACTCTTCTTACGTTGAATGGTACGCT TTCGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTCTCGAGT	181
14E4_VL	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCTTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGC TCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTCCACTCTCACCATCAGC AGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGCCAAC CAGCAGCCCAATTACGTTCCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAAATCAAA	182
CD3, важкий ланцюг (VHCH1)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCA CCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGG AATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGAC CGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCA CCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGT CTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAAC CTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCAGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCAACCGTGCCCTC TAGCTCCCTGGGAACACAGACATATCTGTAATGTCAATCACAAGC CTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGC	183
CD3, схрещений важкий ланцюг (VHCк)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCA CCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGG AATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGAC CGTGTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCC CATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGG ATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACA GGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACACTG TCTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGT	184
праймер для мутагенезу GAB7734 N95Q	GCAGGCAAGCATTATGCAGCGGACTTTTGGTCAAGG	185

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
праймер для мутагенезу GAB7735 N95S	CAGGCAAGCATTATGAGCCGGACTTTTGGTCAAGG	186
праймер для мутагенезу GAB7736 T97A	CATTATGAACCGGGCTTTTGGTCAAGGCACCAAGGTC	187
праймер для мутагенезу GAB7737 T97N	CATTATGAACCGGAATTTTGGTCAAGGCACCAAGGTC	188
VHCH1[16D5]_VHCH1 [CD3]_Fc("виступ")_PGLALA pCON999 (інверт. TCB с 16D5 2+1: pCON999+pCON 983+pETR13197)	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTGCTTTTACCATTTCCTCGCAGCAGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACAA AGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAA GCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCG GCGTGACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTC CCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTG GACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCC GGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGA CTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCC CTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAA CAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACG GCAACTTCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCA GGGCACCCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAG CGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTT TCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTG GTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAA TGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGC CCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACC TGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCCTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATG CCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGTGGTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG GGTAAA	189

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[16D5]_Fc("впадина")_PGLALA_HYRFpCON983	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACCA AGGGCCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCA GCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCG GCGTGACACCTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAG CCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAGGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCC CACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCT CTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGG TCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT GCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCA GCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAC GCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTCGTGAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCGCTTCACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	190
CD3_загальний легкий ланцюг pETR13197	CAGGCCGTGCTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCA CCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCT TCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCTGGCACCC CTGCCAGATTGAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGAC ACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTGCGCGGAGGCACCAAGCTGA CAGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCC CCCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTCTG CCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAG GCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCC AGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCC TGACCCCCGAGCAGTGGAAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGG TGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACC GAGTGCAGC	191

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[CD3]_ VHCH1[16D5] _Fc("виступ") _PGLALA pETR13932 (класична ТСВ з 16D5; 2+1: pETR13932+pC ON983+pETR13 197)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCA CCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGG AATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCTCGTGAC CGTGTCATCTGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCTCTGGCC CCCAGCAGCAAGAGCACAAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGC CTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACA GCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCCTA GCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCAGCAACACCAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGT GATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAATTG GTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGTTCCCTGCGTC TGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAACGCGTGGATGAG CTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTTGGTCG TATCAAGTCTAAACTGACGGTGGCACACGGATTACGCGGCTCCA GTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCT GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAAGTGAAGACACCGCAGTCTACT ACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCA GGGCACGCTGGTTACGGTGTCTAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAG CGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CCGTGTCTTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTT TCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTG GTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAA TGTCATCACAAGCCTTCCAACACCAAGTTCGATAAGAAAGTCGAGC CCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACC TGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATG CCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGTGGTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG GGTAAA	192

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[CD3] _Fc("виступ")_P GLALA pETR13719 (16D5, формат IgG, 1+1: pETR13719+pC ON983+pETR13 197)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCA CCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGG AATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGAC CGTGTCTATCTGCTAGCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTG ACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCTGCAGG GGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCT GACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	193
Fc("впадина") _PGLALA_HYRF pETR10755 (16D5, голова-до хвоста, 1+1: pCON999 + pETR10755+pET R13197)	GACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGG GGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCT GACCAAGAACCAGGTGAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT TCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	194

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[9D11] _VHCL[CD3] _Fc("виступ")_P GLALA pCON1057 (9D11, інверт.формат, 2+1: pCON1057+pCO N1051+pCON10 63+pETR12940)	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACC GGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGGGT CAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACAAAGGGCCCCA GCGTGTTCCCTCTGGCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAAC AGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCTGTG ACCGTGTCTTGAAGTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCT TTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCCTGTAATACTCTGAGCAGCGT GGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAACCACAAGCCAGCAACACCAAGTGGACAAGAAGGTGG AGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGAT CCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTG GCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAG CACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCT GGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACC TACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGAC GACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCG AGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAA CAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTG ACCGTGTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCC CCCATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGT CTGCTGAACAATTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGT GGATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAA CAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACAC TGTCTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCTGA AGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCTGTCCCCCAAAGCCCAAG GACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG GTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACG TGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC AACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT AAA	195

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11_Fc("впади на") _ PGLALA_HYRF pCON1051	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCGGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGGGT CAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCCT CCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCA CAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGT GACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACAC CTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGC GTGGTCACCGTGCCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGT GGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCA GCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCA CCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCC CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTCTCGTGCG CAGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT CCGGGTAAA	196
9D11_LC pCON1063	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGG CGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCAC TCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCA GAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGT GTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGT TGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGT ATGCAGGCAAGCATTATGAACCGGACTTTTGGTCAAGGCACCAAGG TCGAAATTAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTG GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGT	197

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VLCH1[CD3] pETR12940	CAGGCCGTGCTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCA CCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCCGGCCAGGCCT TCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCCTGGCACCC CTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAAGGCCGCCCTGAC ACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCAAGCTGA CAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAAGGCCCTTCCGTGTTTCCTCT GGCTCCTAGCTCCAAGTCCACCTCTGGAGGCACCGCTGCTCTCGGA TGCCTCGTGAAGGATTATTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGAA TAGCGGAGCACTGACCTCTGGAGTGCATACTTTCCCCGCTGTGCTG CAGTCCTCTGGACTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAA GCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTTGT	198
VHCL[CD3]_ Fc("виступ") _PGLALA pETR13378 (9D11, формат CrossMab, 1+1: pETR13378+pC ON1051+pCON1 063+pETR12940)	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGCGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCA CCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGG AATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACA GCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCTCGTGAC CGTGTCTATCTGCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCC CATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAGTGG ATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACA GGAATCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACACTG TCTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAC CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGAAG CTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCTGTTCCCCCACAAGCCCCAAGGA CACCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAA CAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGG GATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	199

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5, інвертована, 2+1 ch N100A в CDR H3 pETR14096 (pETR14096+pC ON983+pETR13 197)	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACAA AGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAA GCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCG GCGTGACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTC CCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACTCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTG GACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCC GGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGA CTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCC CTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAA CAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACG GCAACTTCGGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCA GGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAG CGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAGACTACTTCGAGCCCGTGACCG TGTCTTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTTCC AGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTC ACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGT CAATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCA AGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGA AGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTTTCCCCCAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT TGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA ACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCG GGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGTGGTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAG GTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA AA	200

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5, інвертована 2+1 з S100aA в CDR H3 pETR14097 (pETR14097+pC ON983+pETR13 197)	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTTGGTCGTATCAAGTCTAAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACAA AGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAA GCGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCC CCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACAAGCG GCGTGACACTTTCCCTGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTC CCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCTCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTG GACAAGAAGGTGGAGCCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCC GGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGA CTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCC CTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAA CAACTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACG GCAACTTCGGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCA GGGCACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAG CGTGTTCCCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGA CCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT TCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTG GTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAA TGTCATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGC CCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACC TGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATG CCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGTGGTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG GGTAAA	201

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
CD3, легкий ланцюг, злитий з CH1; Fc_PGLALA; pETR13862 (капа-лямбда-антитіло з загальним легким ланцюгом анти-CD3, злитим з CH1+Fc_PGLAL A. VH, злиття з константною ділянкою капа- або лямбда-ланцюга pETR13859+pETR13860+pETR13862)	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCA CCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCCGGCCAGGCCT TCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCC CTGCCAGATTGACGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAAGGCCGCCCTGAC ACTGTCTGGCGCCCCAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCAAGCTGA CAGTGCTGAGCAGCGCTAGCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGG AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCA CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCTG CAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCA GGAAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGC AGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA GCTGACCAAGAACCAGGTGACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	202
16D5, VH, злитий з константною ділянкою капа-ланцюга; pETR13859	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCG GTTCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAA CGCGTGGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGA GTGGGTGGTTCGTATCAAGTCTAAACTGACGGTGGCACCACGGAT TACGCGGCTCCAGTTAAAGGTGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAG CAAAAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACA CCGCAGTCTACTACTGTACTACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGAT TATTGGGGCCAGGGCACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCGTGG CCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAA GTCCGGCACCGCTTCTGTCTGTGCTGCTGAACAACCTTCTACCCC CGCGAGGCCAAGGTGACGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCC GGCAACAGCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGC ACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACG AGAAGCACAAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTC TAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGC	203

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
CD3, VH, злитий з константною ділянкою лямбда-ланцюга; pETR13860	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGC GGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCAC CTACGCCATGAACTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGCCTGGA ATGGGTGTCCCGGATCAGATCCAAGTACAACAACCTACGCCACCTACT ACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCTCGGGACGACTC CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACTCCT ATGTGTCTTGTTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGT GTCATCTGCTAGCCCCAAGGCTGCCCCAGCGTGACCCTGTTTCCC CCCAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTCTGC CTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAG GCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCC AGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCC TGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGG TGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACC AGTGCAGC	204

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
VHCH1[36F2] _VHCL[CD3]_Fc("виступ") _PGLALA pCON1056	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCG CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACTATTG GGGTCAAGGCACCCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACAAAGGGC CCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCG GAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCC TGTGACCGTGTCCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGAC ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCA GCGTGGTCACCGTGCCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACATCAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAG GTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGG AGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCA GCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTAC CTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAA GGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACG CCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCG GGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCG GCAACAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCT CGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATC TTTCCCCCATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTCTG TGTGTCTGCTGAACAATTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGG AAAGTGGATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGA CAGAACAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCT GACACTGTCTAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCG AAGTACCCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA CAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCC CCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCTGTCCCCCCAAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGG TACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT CTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA TGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCCTGTGGTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC GGGTAAA	246

Опис	Послідовність	SEQ ID NO:
36F2-Fc("впадина") PGLALA pCON1050	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACC GGCGC CTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCC TATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAAT GGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCA GAAATTCAGGGTCGCGTCACGATGACCCATGACACTAGCACCTCT ACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGT GTAATACTGTGCACGCTCTTTCTTCACTGGTTTCCATCTGGACTATTG GGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGCACCAAGGGC CCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAAGCGGC GGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTG CACACCTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGA GCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTA CATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCC CCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCA TCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCT GCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTCTCG TGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTCGTGAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCTCCGGGTAAA	247
36F2 LC pCON1062	GAAATCGTGTTAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCTTGACAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGC TCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGGCCACTGGCATCCCnAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATA CCAACGAACATTATTATACGTTTCGGCCAGGGGACCAAAAGTGGAAATC AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGA TGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATA ACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGC CCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCA NGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	97
CD3 VLCH1 pETR12940	CAGGCCGTGCTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGC GGCACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCA CCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCCGGCCAGGCCT TCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCTGGCACCC CTGCCAGATTGACGCGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGAC ACTGTCTGGCGCCCAGCCAGAAGATGAGGOCGAGTACTACTGCGCC CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGA CAGTGCTGAGCAGCGCTTCCACCAAAGGCCCTTCCGTGTTTCTCT GGCTCCTAGCTCCAAGTCCACCTCTGGAGGCACCGCTGCTCTCGGA TGCCTCGTGAAGGATTATTTCTGAGCCTGTGACAGTGTCTCGGA TAGCGGAGCACTGACCTCTGGAGTGCATACTTTCCCCGCTGTGCTG CAGTCTCTGGACTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAAGTCTTGT	198

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
K53A nt	CAGACCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCA CCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAA CTACGCCAACTGGGTGCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCTCCCAGAGGACTG ATCGGCGGCACCAACGCCAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTAGCG GATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGTGCAGCC TGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAACCTGTGG GTGTTGCGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTCCTA	205
S93A nt	CAGACCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCA CCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAA CTACGCCAACTGGGTGCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCTCCCAGAGGACTG ATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTAGCG GATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGTGCAGCC TGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACGCCAACCTGTGG GTGTTGCGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTCCTA	206

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
S35H nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTG GATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGG ACGGATCAAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCT GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC ACCACCCCCTGGGAGTGGTCTTGGTACGACTATTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTCTGCTAGC	207
G49S nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTG GATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGTCC CGGATCAAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCTG TGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTA CCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCA CCACCCCCTGGGAGTGGTCTTGGTACGACTATTGGGGCCAGGGCACCC CGTGACCGTGTCTCTGCTAGC	208
R50S nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTG GATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGG ATCTATCAAGAGCAAGACCGACGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCT GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC ACCACCCCCTGGGAGTGGTCTTGGTACGACTATTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTCTGCTAGC	209
W96Y nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTG GATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGG ACGGATCAAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCT GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC ACCACCCCCTACGAGTGGTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTCTGCTAGC	210
W98Y nt	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTGGCGGAT CTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACGCCTG GATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAGGACTCGAGTGGGTGGG ACGGATCAAGAGCAAGACCGATGGCGGCACCACCGACTATGCCGCCCT GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC ACCACCCCCTACGAGTGGTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTCTGCTAGC	211

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
90D7 nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC AACTACACTATCGTTGTTTCTCCGTTTCGACTATTGGGGTCAAGGCACCCT CGTAACGGTTTCTTCTGCTAGC	212
90C1 nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC AACTACTTCATCGTTTCTGTTGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCT CGTAACGGTTTCTTCTGCTAGC	213
5E8 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTCTGACTTACTCTATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGG TTTCTTCTGCTAGC	214
5E8 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCGA ACCGGCGAGCATTCTTGGCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAAC GGCTACAACATATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAAGGCCCTC AGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCG TTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGT GTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGCAGA TTCCAAACACTTTTGGTCAAGGCACCAAGGTGCAAAATTAACGTACG	215
12A4 VH nt	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAGCAGTTATGC CATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC AGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAG GGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGC AGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAA ATACGCTTACGCTCTGGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCAACCGTC TCGAGTGCTAGC	216
12A4 VL nt	GAAATCGTGTTAOCGAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCTTGAGGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATC TATGGAGCATCCAGCAGGGGCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGC AGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTG AAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGCATGGCAGCAGCAGCACGTT CGGCCAGGGGACCAAGTGGAATCAAACGTACG	217
7A3 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTGAATTCTCTGCTGGTCGTCTGATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCC TCGTAACGGTTTCTTCTGCTAGC	218

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
7A3 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGAAGTCCAGGCGA ACCGGCGAGCATTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAAC GGCTACAACATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTC AGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCG TTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGT GTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGCAGA CCCCACCAATTACCTTTGGTCAAGGCACCAAGGTGCGAAATTAACGTACG	219
6E10 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTGACTACAACGCTTTGCACTATTGGGGTCACGGCACCCCTCGTAACGG TTTCTTCTGCTAGC	220
6E10 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGAAGTCCAGGCGA ACCGGCGAGCATTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAAC GGCTACAACATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTC AGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCG TTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGT GTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGGCATA GCCCAACTTTTGGTCAAGGCACCAAGGTGCGAAATTAACGTACG	221
12F9 VH nt	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTGCTACTTACACTATGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCCTCGTAACGG TTTCTTCTGCTAGC	222
12F9 VL nt	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGAAGTCCAGGCGA ACCGGCGAGCATTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAAC GGCTACAACATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCGGGTCAGAGCCCTC AGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGACCG TTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCCGT GTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCACTGCAGA CCCCAATTACTTTTGGTCAAGGCACCAAGGTGCGAAATTAACGTACG	223

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
pETR11646 Mov19 VH- CH1- Fc("впадина") PG/LALA	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAGCTCGTGAAACCTGGCGC CTCCGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCGGCTA CTTCATGAACTGGGTCAAGCAGAGCCACGGCAAGAGCCTGGAATGGAT CGGCAGAATCCACCCCTACGACGGCGACACCTTCTACAACCAGAACTTC AAGGACAAGGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCAACACCGCCAC ATGGAAGTCTGAGCCTGACCAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC ACCAGATACGACGGCAGCCGGGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCAC CACCGTGACAGTGTCCAGCGCTAGACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGA ACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC AGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTA GCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAA CTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC	224

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
	CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCT GCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTCTCGTG CGCAGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	
pETR11647 Mov19 VH- CH1-CD3 VH- CL- Fc("виступ") PG/LALA	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAGCTCGTGAAACCTGGCGC CTCCGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCACCGGCTA CTTCATGAAGTGGGTCAAGCAGAGCCACGGCAAGAGCCTGGAATGGAT CGGCAGAAATCCACCCCTACGACGGCGACACCTTCTACAACCAGAACCTC AAGGACAAGGCCACCCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCAACACCGCCAC ATGGAAGTGTGAGCCTGACCAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC ACCAGATACGACGGCAGCCGGGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCAC CACCGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCT TCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGG CTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTTGGAA CTCTGGCGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCAGCCGTGCTGCA GAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAG CAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGG AGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCG GCGGAGGCCTGGTGCAGCCTAAGGGCTCTCTGAAGCTGAGCTGTGCC GCCAGCGGCTTCACCTTCAACACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAG GCCCCTGGAAGGCCTGGAATGGGTGGCCCGGATCAGAAGCAAGTA CAACAATTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGACCGGTTTAC CATCAGCCGGGACGACAGCCAGAGCATCCTGTACCTGCAGATGAACAA CCTGAAAACCGAGGACACCGCCATGTACTACTGCGTGGCGCACGGCAA CTTCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCAC CCTCGTGACAGTGTCTGCTGCTAGCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATC TTTCCCCATCCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTGCTG TGTCTGCTGAACAATTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAG TGGATAACGCACTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAAC AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCCTGACACTGTC TAAGGCTGATTATGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCAT CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT GACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCTGAAGCTGCTGGC GGCCCTTCTGTGTTCTGTTCCTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGA TCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACG AGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGC ACAACGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCG AGAAAACCATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCC TGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC CGGGTAAA	225
pETR11644 Mov19 LC	GACATCGAGCTGACCCAGAGCCCTGCCTCTCTGGCCGTGTCTCTGGGA CAGAGAGCCATCATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGTCTTTGCC GGCACCTCTCTGATGCACTGGTATCACCAGAAGCCCGGCCAGCAGCCC AAGCTGCTGATCTACAGAGCCAGCAACCTGGAAGCCGGCGTGCCACACA	226

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
	AGATTTTCCGGCAGCGGCAGCAAGACCGACTTCACCCTGAACATCCAC CCCGTGGAAGAAGAGGACGCCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAGA GAGTACCCCTACACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGT ACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT TGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGT AACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5 VH_D52dE	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGT TCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAACGCGT GGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTT GGTCGTATCAAGTCTAAACTGAGGGTGGCACCACGGATTACGCGGCT CCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCGCCGACGATAGCAAAAACACTCT GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACACCGCAGTCTACTAC TGTAACACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGC ACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	261
16D5 VH_D52dQ	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGT TCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAACGCGT GGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTT GGTCGTATCAAGTCTAAACTCAGGGTGGCACCACGGATTACGCGGCT CCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCGCCGACGATAGCAAAAACACTCT GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACACCGCAGTCTACTAC TGTAACACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGC ACGCTGGTTACGGTGTCTTCC	262
CD3_VH N100A	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGG ATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTAC GCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGT GTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTACTACGCCGAC AGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACC CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTG CCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCAAGC	263
CD3_VH S100aA	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGG ATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTAC GCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGT GTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCCACCTACTACGCCGAC AGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACC CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTG CCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCAAGC	264

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5 [VHCH1]- CD3[VHCH1- N100A]- Fc("виступ")_ PGLALA	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGT TCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAACGCGT GGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTT GGTCGTATCAAGTCTAAAACCTGACGGTGGCACCACGGATTACGCGGCT CCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCT GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACACCGCAGTCTACTAC TGTAACACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGC ACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAAGCGGCGGAACAGCCGCCCT GGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACTTTCCCTGCCGTGCT GCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAAGC CAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGG CGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAT CTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTG CCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCC AGGCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGT ACAACAACCTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGC AACTTCGGCGCCAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGC ACCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTG GGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGG AACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTG CAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCT AGCTCCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTCAATCACAAAGCCTTC CAACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAAC CACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCA TCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGC CCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGTGGTGCC TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	265

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5- Fc("впадина") -PGLALA	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGT TCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAACGCGT GGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTT GGTCGTATCAAGTCTAAAACCTGACGGTGGCACACCGATTACGCGGCT CCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCT GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACACCGCAGTCTACTAC TGTAACACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGC ACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTT CCCCGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACACGCGGCGGCACAGCCGCTCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCT GCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTC TAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAA AACTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACC GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCTCACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACC CTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTCTCG TGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAG GCTCTGCACAACCGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT AAA	266
CD3-CLC	CAGGCCGTCGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGC AACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGA CTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCCTGGCACCCCTGCCAGATT AGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGCC CAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAAC CTGTGGGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTCCTAGGTCAACCC AAGGCTGCCCCCAGCGTGACCTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAAGT CAGGCCAACAAGGCCACCTGGTCTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCA GGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGC CGGCGTGGAGACCACCACCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGC CGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAAGGCCACAG GTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAAAC CGTGGCCCCCACCAGTGCAGC	267

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5 [VHCH1]- CD3[VHCH1- S100aA]- Fc("виступ")_ PGLALA	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGTGGTGGTCTGGTAAAACCGGGCGGT TCCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCTTCCGGATTACCTTCTCCAACGCGT GGATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCCCGGGCAAAGGCCTCGAGTGGGTT GGTCGTATCAAGTCTAAAACCTGACGGTGGCACCACGGATTACGCGGCT CCAGTTAAAGGTCGTTTTACCATTTCCCGCGACGATAGCAAAAACACTCT GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAAAACCTGAAGACACCGCAGTCTACTAC TGTAACACCCCGTGGGAATGGTCTTGGTACGATTATTGGGGCCAGGGC ACGCTGGTTACGGTGTCTTCCGCTAGCACAAAGGGCCCTAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACAAAGCGGCGGAACAGCCGCCCT GGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGCACACTTTCCCTGCCGTGCT GCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGGC CAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGG CGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAT CTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTG CCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCC AGGCCCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGT ACAACAACCTACGCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGC AACTTCGGCAACGCCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCA CCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCTCTGG GCTGTCTGGTGAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAA CTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCA GAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAG CTCCCTGGGAACACAGACATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCA ACACCAAAGTCGATAAGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACCTCA CACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCCTGTGGTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	268

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11 [VHCH1]- CD3[VHCL- N100A]- Fc("виступ")_ PGLALA	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAAACCGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTCTGCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAAACCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCCTCGTAACG GTTTCTTCTGCTAGCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTA GCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCC TGACAAGCGGCGTGACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGT GGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCG GAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTG GTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTC ACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAA GGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCC ACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCAACATCAGCCGGGAC GACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCGCCAGC TATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGT CAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCCCATCCGA TGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCACTGC AGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAGGACTCCAAGGACA GCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACACTGTCTAAGGCTGATTATGA GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC GCCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACAC CTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCT CTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCC GAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTG AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCAT GCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTCA AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC AGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA CCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	269

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11- Fc("впадина")	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACCAGGGCGCTT CCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTCTGCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAAACCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCCTCGTAACG GTTTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCA GCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGTTCTGGC CTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGC CCACCGTGCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTC TCCCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAG CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAG	270
9D11_LC [N95Q]	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAGGCG AACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTGCACTCCAA CGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCAGGGTCAGAGCCCT CAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGCTTCCGGTGTACCGGAC CGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCGATTTCACGTTGAAAATCAGCC GTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCGTTTATTACTGTATGCAGGCAAGCAT TATGCAGCGGACTTTTGGTCAAGGCACCAAGGTGCAAAATTAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGA AATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC CTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	271
CD3_VLCH1	CAGGCCGTCTGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACATGTGGCAGTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGC AACTACGCCAACTGGGTGCAGGAAAAGCCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGA CTGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCTGGCACCCCTGCCAGATTC AGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGCCGCCCTGACACTGTCTGGCGCC CAGCCAGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTACAGCAAC CTGTGGGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTGTGAGCAGCGCT TCCACCAAAGGCCCTTCCGTGTTTCTCTGGCTCCTAGCTCCAAGTCCA CCTCTGGAGGCACCGCTGCTCTCGGATGCCTCGTGAAGGATTATTTTC TGAGCCTGTGACAGTGTCTTGAATAGCGGAGCACTGACCTCTGGAGT GCATACTTTCCCCGCTGTGCTGCAGTCTCTGGACTGTACAGCCTGAGC AGCGTGGTGACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTG GAACCCAAGTCTTGT	272

Варіант	Послідовність	SEQ ID NO:
9D11 [VHCH1]- CD3[VHCH1- S100aA]- Fc("виступ")- PGLALA	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACCAGGGCGCTT CCGTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACTTCCTATTAC ATGCACTGGGTTCTGCAAGCCCCGGGCCAGGGTCTGGAATGGATGGGC ATCATTAAACCAAGCGGTGGCCCTACCTCCTACGCGCAGAAATTCAGG GTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTAGCACCTCTACCGTTTATATGGA GCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAGATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGC GGTGACTTCGCTTGGCTGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCCTCGTAACG GTTTCTTCTGCTAGCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTA GCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCC TGACAAGCGGCGTGACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCAACCGTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGT GGACAAGAAGGTGGAGCCCCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCG GAGGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTG GTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTC ACCTTCAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAA GGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACCTACGCC ACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGAC GACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGCAACTTCGGCAACGCC TATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGT CAAGCGCTAGTGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTTCCCCCATCCGA TGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGTCTGCTGAACAAT TTTTACCCTAGGGAAGCTAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCACTGC AGTCCGGCAACTCCCAGGAATCTGTGACAGAACAGGACTCCAAGGACA GCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACACTGTCTAAGGCTGATTATGA GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC GCCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTGACAAGACCCACAC CTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGAAGCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCT CTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCC GAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTG AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACAAACGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGATACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCAT GCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTCA AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC AGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA CCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGAAA	273

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
16D5, варіант W96Y/D52E VH	GAGGTGCAATTGGTGGAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTG GCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTACCTTC AGCAACGCCTGGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTTGAAAAG GACTCGAGTGGGTGGGACGGATCAAGAGCAAGACCGAGGGCGG CAACCACCGACTATGCCGCCCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGC CTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCTA CGAGTGGTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGA CCGTGTCATCT	287

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
W96Y/D52E_CD3-VHCH1_Fc("виступ")_PGLALA pETR14945	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTG GCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTC AGCAACGCCTGGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAG GACTCGAGTGGGTGGGACGGATCAAGAGCAAGACCGAGGGCGG CACCACCGACTATGCCGCCCTGTGAAGGGCCGGTTACCATCA GCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGC CTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCTA CGAGTGGTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGA CCGTGTCATCTGCTAGCACAAAGGGGCCCTAGCGTGTTCCTCTGG CCCCCAGCAGCAAGAGCACAAGCGGCGGAACAGCCGCCCTGGG CTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACAAGCGGCGTGACACACCTTCCCTGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACTCCCTGAGCAGCTGTTGTTACC GTGCCTAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGC CCAAGAGCTGTGATGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGCGGAGGATC CGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTT CAGCACCTACGCCATGAACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAAAG GCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCAGAAGCAAGTACAACAACACTAC GCCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGTGCGGCACGGC AACTTCGGCAACAGCTATGTGTCTTGGTTTGCCTACTGGGGCCAG GGCACCCCTCGTGACCGTGTCAAGCGCTAGTACCAAGGGGCCAG CGTGTTCCTCCCTGGCACCCAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAA CAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGAAGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGTCTTGGAACTCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTTCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGT CCTCCGTGGTCACCGTGCCCTCTAGCTCCCTGGGAACACAGACA TATATCTGTAATGTCAATCACAAGCCTTCCAACACCAAAGTCGATA AGAAAGTCGAGCCCAAGAGCTGCGACAAAACACTACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCAGCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCC TGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCA AGAACCAGGTACGCTGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT TCTTCCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCCTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	288

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
W96Y/D52E_Fc("вп адина") _PGLALA_HYRF pETR14946	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTCGTGAAGCCTG GCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTC AGCAACGCCTGGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAAG GACTCGAGTGGGTGGGACGGATCAAGAGCAAGACCGAGGGCGG CACCACCGACTATGCCGCCCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGC CTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCACCCCTA CGAGTGGTCTTGGTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGA CCGTGTCATCTGCTAGCACCAAGGGGCCCTCCGTGTTCCCCCTG GCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCC TGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACACCTTCCCCGC CGTGCTGCAGAGTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCA CCGTGCCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGA GCCCAAGAGCTGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAG CACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC GTCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG TGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGA CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCGTG AGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGT CTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCGCTTCAC GCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA	289
14B1 VH	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAG CAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGTGACTIONCGTTACCGT TACTTCGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT	290
14B1 VL	TCTTCTGAACTGACTCAAGATCCAGCTGTTAGCGTGGCTCTGGGT CAGACTGTACGTATCACCTGCCAAGGCGATTCTCTGCGCTCCTAC TACGCAAGCTGGTACCAGCAGAAACCGGGTCAGGCCCCAGTTCT GGTGATTTACGGCAAAAACAACCGTCCGTCTGGGATCCCGGACC GTTTCTCCGGCAGCTCTTCCGGTAACACGGCGAGCCTCACCATCA CTGGCGCTCAAGCAGAAGACGAGGCCGACTATTACTGTAACCTCTC GGGAAAGCCCACCAACCGGCCTGGTTGTCTTCGGTGGCGGTACC AAGCTGACCGTCCTA	291

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
14B1[EE]_CD3[VLC H1] _Fc("виступ")_PGLA LA pETR14976	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAG CAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCCGTTACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGTGACTIONACCGTTACCGT TACTTCGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT GCTAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCCTTCCAG CAAGTCCACCTCTGGCGGAAGTCCCGCTCTGGGCTGCCTGGTGG AAGATTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCG CTCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCCT CCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCTGTGACAGTGCCCTCCAGC TCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC TCCAACACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGA CGGTGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCAGGCTGTCTGTG ACCCAGGAACCCTCCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACCGTGAC CCTGACCTGTGGATCTTCTACCGGCGCTGTGACCACCTCCAATA CGCCAATTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCTTCAGAGGAC TGATCGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGA TTCTCCGGTTCTCTGCTGGGCGGCAAGGCTGCCCTGACTCTGTCT GGTGCTCAGCCTGAGGACGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTG GTACTCCAACCTGTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCAAGCTGACCG TGCTGTCCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCTG GCCCCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGG ATGTCTCGTGAAGGACTACTTTCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTG GAACAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGACACATTCCCTGCAG TGCTGCAGAGCAGCGGCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCTGTGACC GTGCCCTTCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATATCTGTAATGTG AATCATAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGGAACT AAGAGCTGCGATAAGACCCACACCTGTCCCCCTGCCCTGCTCCT GAAGCTGCTGGTGGCCCTAGCGTGTTCCCTGTTCCCCCCTAAAGCC CAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCG TGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATT GGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCCT AGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGGTACAAGT GCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGGGCGCTCCCATCGAAAAGACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCAGGTGTACAC CCTGCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCC TGTGGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCAC GCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAA GCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA	292

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
14B1[EE]_Fc("впади на")_PGLALA pETR14977	GAGGTGCAATTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAG CAGTTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCCGTTACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGTGACTIONACCGTTACCGT TACTTCGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT GCTAGCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAG CAAGAGCACCAAGGGCCCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTC GAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAACAGCGG AGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGA GTTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCCTTCTA GCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTG CGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCTG CAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAAACCCAAGGAC ACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCC CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCCTCTCGTG CGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCGTGAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAA	293
14B1 LC [KK] константна ділянка лямбда-ланцюга pETR14979	TCTTCTGAACTGACTCAAGATCCAGCTGTTAGCGTGGCTCTGGGT CAGACTGTACGTATCACCTGCCAAGGCGATTCTCTGCGCTCCTAC TACGCAAGCTGGTACCAGCAGAAACCGGGTCAGGCCCCAGTTCT GGTGATTTACGGCAAAAACAACCGTCCGTCTGGGATCCCCGACC GTTTCTCCGGCAGCTCTTCCGGTAACACGGCGAGCCTCACCATCA CTGGCGCTCAAGCAGAAGACGAGGCCGACTATTACTGTAACTCTC GGGAAAGCCCAACCAACCGGCCTGGTTGTCTTCGGTGGCGGTACC AAGCTGACCGTCCTAGGTCAACCCAAGGCTGCCCCCAGCGTGAC CCTGTTCCCCCCCAGCAGCAAGAACTGCAGGCCAACAAGGCCA CCCTGGTCTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACC GTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGG AGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAG GTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGA AAACCGTGGCCCCCACCAGGTGCAGC	294
9C7 VH	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACCGGGC GCTTCCGTAAAGTGAGCTGCAAGCATCCGGATACACCTTCACT TCCTATTACATGCACTGGGTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCT GGAATGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTA CGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTA GCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAG ATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTGGTCTTACTACA TGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCTCGTAACGGTTTCTTCT	295

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
9C7 VL	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGAAGTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTG CACTCCAACGGCTACAACCTATCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCG GGTCAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGC TTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCG ATTTACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCG TTTATTACTGTATGCAGGCACGGCAGACCCCAACTTTTGGTCAAG GCACCAAGGTGCAAAATTA	296
9C7[EE]_CD3[VLCH 1]_Fc- ("виступ")_PGLALA pETR14974	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGTGAAGTAAAAAACCGGGC GCTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACT TCCTATTACATGCACTGGGTTCTGCAAGCCCCGGGCCAGGGTCT GGAATGGATGGGCATCATTAAACCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTA CGCGCAGAAATTCAGGGTCCGCTCAGCATGACCCGTGACACTA GCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAG ATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGAAGTGTCTTACTACA TGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTA GCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTTCTCTGGCCCCCTTCCAGCAAG TCCACCTCTGGCGGAAGTCCGCTCTGGGCTGCCTGGTGAAGA TTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATTCTGGCGCTCT GACCTCCGGCGTGACACCTTTCAGCTGTGCTGCAGTCCCTCCG GCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTC TGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCA ACACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAACCCAAGTCCCTGCGACGGT GGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCCAGGCTGTCTGTGACCC AGGAACCTCCCTGACAGTGTCTCCTGGCGGCACCGTGACCTG ACCTGTGGATCTTCTACCGGCGCTGTGACCACCTCCAACCTACGCC AATTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCCCTCAGAGGACTGAT CGGCGGCACCAACAAGAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCT CCGGTTCTCTGCTGGGCGGCAAGGCTGCCCTGACTCTGTCTGGT GCTCAGCCTGAGGACGAGGCCGAGTACTACTGCGCCCTGTGGTA CTCCAACCTGTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCAAGCTGACCGTGC TGTCCAGCGCTTCCACCAAGGGACCCAGTGTGTTCCCCCTGGCC CCCAGCTCCAAGTCTACATCCGGTGGCACAGCTGCCCTGGGATG TCTCGTGAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGAA CAGCGGAGCCCTGACCAGCGGAGTGCACACATTCCCTGCAGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTCTGACCGTG CCTTCTCTAGCCTGGGAACACAGACATATCTGTAAATGTGAATC ATAAGCCCAGTAATACCAAAGTGGATAAGAAAGTGAACCTAAGA GCTGCGATAAGACCCACACCTGTCCCCCTGCCCTGCTCCTGAA GCTGCTGGTGGCCCTAGCGTGTTCTGTTCCCCCAAGGCCAA GGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGG TGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGT ACGTGGACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCCTAGA GAGGAACAGTACAACCTCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC AGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCA AGGTGTCCAACAAGGCCCTGGGCGCTCCCATCGAAAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCAGGTGTACACCT GCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGT GGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCC TCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCT CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA	297

Позначення	Послідовність	SEQ ID NO:
9C7[EE]_Fc- ("впадина")_PGLAL A pETR14975	CAGGTGCAATTGGTTCAATCTGGTGCTGAAGTAAAAAACCGGGC GCTTCCGTTAAAGTGAGCTGCAAAGCATCCGGATACACCTTCACT TCCTATTACATGCACTGGGTTTCGTCAAGCCCCGGGCCAGGGTCT GGAATGGATGGGCATCATTAACCCAAGCGGTGGCTCTACCTCCTA CGCGCAGAAATTCCAGGGTCGCGTCACGATGACCCGTGACACTA GCACCTCTACCGTTTATATGGAGCTGTCCAGCCTGCGTTCTGAAG ATACTGCAGTGTACTACTGTGCACGCGGTGACTGGTCTTACTACA TGGACTATTGGGGTCAAGGCACCCCTCGTAACGGTTTCTTCTGCTA GCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAG AGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTTCGAGG ACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGTTC TGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCAACCGTGCCTTCTAGCA GCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACGAGAAGGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGA CAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCTGCAG GGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACC CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGGA CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCC TGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCC ATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCG CAGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTCGTGAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT CCCTGTCTCCGGGTAAG	298
9C7 LC [RK] pETR14980	GATATTGTTATGACTCAATCTCCACTGTCTCTGCCGGTGACTCCAG GCGAACCGGCGAGCATTTCTTGCCGTTCCAGCCAGTCTCTGCTG CACTCCAACGGCTACAATACTCTCGATTGGTACCTGCAAAAACCG GGTCAGAGCCCTCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCTAACCGCGC TTCCGGTGTACCGGACCGTTTCAGCGGCTCTGGATCCGGCACCG ATTTACGTTGAAAATCAGCCGTGTTGAAGCAGAAGACGTGGGCG TTTATTACTGTATGCAGGCACGGCAGACCCCAACTTTTGGTCAAG GCACCAAGGTGCAAAATTAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCT TCATCTTCCCGCCATCTGATCGGAAGTTGAAATCTGGAAGTGCCT CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCCCAG GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT CAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACA AAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT	299

Хоча представлений вище винахід докладний описаний для цілей кращого розуміння за допомогою ілюстрацій і прикладів, опис і приклади не слід розглядати як обмежуючі обсяг винаходу. Зміст усіх процитованих патентів і наукової літератури повністю включено в даний опис як посилання.

5

Перелік послідовностей

<110> F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

10

<120> БІСПЕЦИФІЧНІ АНТИГЕНЗВ'ЯЗУВАЛЬНІ МОЛЕКУЛИ ПРОТИ FOLRI І CD3, ЩО АКТИВУЮТЬ Т-КЛІТИНИ

<130> 32186

<140>

5 <141>

<150> EP14194147.6

<151> 2014-11-20

10 <160> 316

<170> PatentIn версія 3.5

<210> 1

15 <211> 120

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 1

25 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

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
35 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

45 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2

50 <211> 120

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

55 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 2
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

5 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

10 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

20 Ala Arg Asn Tyr Tyr Thr Gly Gly Ser Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115 120

25

<210> 3
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

30

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

35

<400> 3
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

40 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

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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

5 <210> 4
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 10 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

 <400> 4
 15 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 20 25 30

 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 25 35 40 45

 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 25
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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
 30 85 90 95

 Ala Arg Asn Tyr Tyr Ile Gly Ile Val Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 35 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

 <210> 5
 <211> 120
 40 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 45 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

 <400> 5
 50 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
 55 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
	65		70		75 80
5	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
		85		90	95
10	Ala Arg Asn Tyr Tyr Val Gly Val Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln				
		100		105	110
	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
		115		120	
15	<210> 6				
	<211> 120				
	<212> Білок				
	<213> Штучна послідовність				
20	<220>				
	<221> джерело				
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"				
25	<400> 6				
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala				
	1		5	10	15
30	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
35	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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
	65		70		75 80
40	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
		85		90	95
	Ala Arg Asn Phe Thr Val Leu Arg Val Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln				
45		100		105	110
	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
		115		120	
50	<210> 7				
	<211> 120				
	<212> Білок				
	<213> Штучна послідовність				
55	<220>				
	<221> джерело				
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"				

<400> 7
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 10 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
 15 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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
 20 Ala Arg Asn Tyr Tyr Ile Gly Val Val Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 25
 <210> 8
 <211> 5
 <212> Білок
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 35 пептид"
 <400> 8
 Ser Tyr Tyr Met His
 1 5
 40
 <210> 9
 <211> 17
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 50 пептид"
 <400> 9
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 55 Gly
 <210> 10

<211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

10 <400> 10
 Asn Tyr Tyr Ile Gly Val Val Thr Phe Asp Tyr
 1 5 10

15 <210> 11
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

20 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

25 <400> 11
 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 40 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Glu Trp Arg Arg Tyr Thr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 45 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

50 <210> 12
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

<400> 12
 Gly Glu Trp Arg Arg Tyr Thr Ser Phe Asp Tyr
 1 5 10

5 <210> 13
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

15 <400> 13
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

20 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

25 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

35 Ala Arg Gly Gly Trp Ile Arg Trp Glu His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

40 <210> 14
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

50 <400> 14
 Gly Gly Trp Ile Arg Trp Glu His Phe Asp Tyr
 1 5 10

55 <210> 15
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

5

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

10 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

15

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60

20 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

25 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

30

<210> 16
 <211> 5
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

35

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

40

<400> 16
 Asn Ala Trp Met Ser
 1 5

45 <210> 17
 <211> 19
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

55 <400> 17
 Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
 1 5 10 15

Val Lys Gly

5 <210> 18
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

15 <400> 18
 Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr
 1 5

20 <210> 19
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

30 <400> 19
 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
 35 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
 40 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 45 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 Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 50 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

55 <210> 20
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

5 <400> 20
 Pro Trp Glu Trp Ser Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

10 <210> 21
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

15 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

20 <400> 21
 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

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

30 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

35 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 Ala Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

40 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

45 <210> 22
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

55 <400> 22
 Pro Trp Glu Trp Ala Trp Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 23

<211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

10 <400> 23
 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
 15 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
 25 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 Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 30 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

35 <210> 24
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

40 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

45 <400> 24
 Pro Trp Glu Trp Ala Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

50 <210> 25
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 25
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

5 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

10 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 15 65 70 75 80

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

20 Ala Arg Thr Gly Trp Ser Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

25

<210> 26
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

30

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

35

<400> 26
 Thr Gly Trp Ser Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr
 1 5 10

40

<210> 27
 <211> 120
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

45

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

50

<400> 27
 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

55

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

5 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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

10 Ala Arg Gly Glu Trp Ile Arg Tyr Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

15

<210> 28
<211> 11
<212> Білок
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
25 пептид"

<400> 28
Gly Glu Trp Ile Arg Tyr Tyr His Phe Asp Tyr
1 5 10

30

<210> 29
<211> 120
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

35

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
40 поліпептид"

<400> 29
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

45 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

50 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Val Gly Trp Tyr Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

5 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30
<211> 11
10 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
15 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 30
Val Gly Trp Tyr Arg Trp Gly Tyr Met Asp Tyr
20 1 5 10

<210> 31
<211> 109
<212> Білок
25 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
30 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 31
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

35 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

40 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

45 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

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

<210> 32
55 <211> 14
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 5
 <400> 32
 Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
 1 5 10
 10 <210> 33
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 20 <400> 33
 Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
 1 5
 25 <210> 34
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 30 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 35 <400> 34
 Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
 1 5
 40 <210> 35
 <211> 215
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 45 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"
 50 <400> 35
 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
 55 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
5	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				
10		100		105	110
	Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu				
		115		120	125
15	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
20	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				
25		180		185	190
	Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr				
		195		200	205
30	Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser				
		210		215	
	<210> 36				
	<211> 125				
35	<212> Білок				
	<213> Штучна послідовність				
	<220>				
	<221> джерело				
40	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний				
	поліпептид"				
	<400> 36				
	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly				
45	1	5		10	15
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr				
		20		25	30
50	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
55	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

5 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

10 <210> 37
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

20 <400> 37
Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

25 <210> 38
<211> 19
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

35 <400> 38
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

40 <210> 39
<211> 14
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

50 <400> 39
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

55 <210> 40
<211> 228
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 5 поліпептид"

 <400> 40
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 10 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
 15 35 40 45
 Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 20 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
 25 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 Thr
 115 120 125
 30 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 130 135 140
 35 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 40 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 195 200 205
 45 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 210 215 220
 50 Pro Lys Ser Cys
 225
 <210> 41
 <211> 121
 55 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>

<221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

5 <400> 41
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 10 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 15 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn 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
 20 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25 Ala Arg Ala Val Phe Tyr Arg Ala Trp Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

30 <210> 42
 <211> 5
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

35 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

40 <400> 42
 Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

45 <210> 43
 <211> 17
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

55 <400> 43
 Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 44
 <211> 12
 5 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 10 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

 <400> 44
 Ala Val Phe Tyr Arg Ala Trp Tyr Ser Phe Asp Tyr
 15 1 5 10

 <210> 45
 <211> 107
 <212> Білок
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 25 поліпептид"

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

 <210> 46
 50 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 55 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

<400> 46
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

5 <210> 47
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

15 <400> 47
 Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

20 <210> 48
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

30 <400> 48
 Gln Gln Tyr Thr Ser Pro Pro Pro Thr
 1 5

35 <210> 49
 <211> 119
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

40 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

45 <400> 49
 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

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

55 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

5 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

10 <210> 50
<211> 10
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

20 <400> 50
Ser Phe Phe Thr Gly Phe His Leu Asp Tyr
1 5 10

25 <210> 51
<211> 109
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

35 <400> 51
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

40 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

50 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

55 <210> 52
<211> 12
<212> Білок

<213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 <400> 52
 10 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10
 <210> 53
 <211> 7
 <212> Білок
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 20 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 <400> 53
 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5
 25 <210> 54
 <211> 10
 <212> Білок
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 35 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 <400> 54
 Gln Gln Tyr Thr Asn Glu His Tyr Tyr Thr
 1 5 10
 40 <210> 55
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 45 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"
 50 <400> 55
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 55 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 Pro Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

5 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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

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

Val Thr Val Ser Ser
15 115

<210> 56
<211> 17
<212> Білок
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
25 пептид"

<400> 56
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Pro Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

30 Gly

<210> 57
35 <211> 8
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 57
45 Gly Asp Phe Ala Trp Leu Asp Tyr
1 5

<210> 58
<211> 112
50 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
55 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 58

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 5 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 10 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 15 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 20 Ser Ile Met Asn Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 59
 <211> 16
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 30 пептид"
 <400> 59
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15
 35 <210> 60
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 45 пептид"
 <400> 60
 Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
 1 5
 50 <210> 61
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

<400> 61
 Met Gln Ala Ser Ile Met Asn Arg Thr
 1 5
 5
 <210> 62
 <211> 112
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 10
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 15
 <400> 62
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 20 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 25 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 30 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 35 Ser Ile Met Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 63
 <211> 9
 40 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 45 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"
 <400> 63
 Met Gln Ala Ser Ile Met Ser Arg Thr
 1 5
 50
 <210> 64
 <211> 112
 <212> Білок
 55 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 64

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

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

10 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

15 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

20 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Ser Ile Met Gln Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

25

<210> 65

<211> 9

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

30

<220>

<221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

35

<400> 65

Met Gln Ala Ser Ile Met Gln Arg Thr
1 5

40

<210> 66

<211> 112

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

45

<220>

<221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

50

<400> 66

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

55

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

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

10 Ser Ile Met Asn Arg Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 67
15 <211> 9
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
20 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 67
25 Met Gln Ala Ser Ile Met Asn Arg Ala
1 5

<210> 68
30 <211> 112
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
35 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 68
40 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

45 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
55 85 90 95

Ser Ile Met Asn Arg Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 69
 <211> 9
 <212> Білок
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 10 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

 <400> 69
 Met Gln Ala Ser Ile Met Asn Arg Asn
 1 5
 15
 <210> 70
 <211> 116
 <212> Білок
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"
 25
 <400> 70
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 30 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 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 40 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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
 45 Ala Arg Ser Tyr Ile Asp Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
 50
 <210> 71
 <211> 7
 <212> Білок
 55 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

пептид"

<400> 71

5 Ser Tyr Ile Asp Met Asp Tyr
1 5

<210> 72

<211> 107

<212> Білок

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

15 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 72

20 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

25 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

30 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 Asp Asn Trp Ser Pro
85 90 95

35 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 73

40 <211> 8

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

45 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 73

50 Gln Gln Asp Asn Trp Ser Pro Thr
1 5

<210> 74

<211> 116

55 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

5 <400> 74
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

10 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

15 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
 115

30 <210> 75
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

35 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

40 <400> 75
 Ser Tyr Val Asp Met Asp Tyr
 1 5

45 <210> 76
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

55 <400> 76
 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
 5
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 10
 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 Asp Ile Trp Ser Pro
 85 90 95
 15
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 77
 <211> 8
 20 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 25 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"
 <400> 77
 Gln Gln Asp Ile Trp Ser Pro Thr
 30 1 5
 <210> 78
 <211> 121
 <212> Білок
 35 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 40 поліпептид"
 <400> 78
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 45
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 50 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 55
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ser Tyr Val Glu Trp Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

5 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

10 <210> 79
<211> 5
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

20 <400> 79
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

25 <210> 80
<211> 17
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

35 <400> 80
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

40 <210> 81
<211> 12
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

50 <400> 81
Asp Ser Ser Tyr Val Glu Trp Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

55 <210> 82
<211> 108
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

5

<400> 82
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

10 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

15

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

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

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

25 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 83

<211> 9

30

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

35

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

<400> 83

Gln Gln Pro Thr Ser Ser Pro Ile Thr
 1 5

40

<210> 84

<211> 103

<212> Білок

45

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

50

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 84

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

55

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 5 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 10 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 100
 15 <210> 85
 <211> 103
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 25 <400> 85
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 30 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 40 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 45 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 100
 <210> 86
 <211> 214
 50 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 55 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 <400> 86

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 5 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
 10 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
 15 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
 25 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
 30 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
 35 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 195 200 205
 40 Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210
 <210> 87
 <211> 232
 45 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 <400> 87
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 55 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

5 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

10 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
15 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
115 120 125

20 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

25 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
30 180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

35 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

40 <210> 88
<211> 105
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

50 <400> 88
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
1 5 10 15

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

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

		35		40		45												
	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr		
	50						55					60						
5	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His		
	65					70				75						80		
	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val		
10					85					90					95			
	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
				100					105									
15	<210>	89																
	<211>	689																
	<212>	Білок																
	<213>	Штучна послідовність																
20	<220>																	
	<221>	джерело																
	<223>	/примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"																
25	<400>	89																
	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		
30				20					25					30				
	Trp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
			35					40					45					
35	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			
40	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		
45				100					105					110				
	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val		
			115					120				125						
50	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		
55	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		
5	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				
10	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	
15	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
20			275					280					285			
	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe
		290					295					300				
25	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	
30	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
35			355					360					365			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
		370					375					380				
40	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	
45	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
50			435					440					445			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
		450					455					460				
55	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		
5	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
			515					520					525			
10	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
15	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
20				580					585					590		
	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp
			595					600					605			
25	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
30	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
35				660					665					670		
	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
			675					680					685			
40	Lys															
	<210>	90														
	<211>	450														
	<212>	Білок														
45	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<221>	джерело														
50	<223>	/примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"														
	<400>	90														
55	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				
5	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	
10	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			
15	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	
20		130					135					140					
	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
	145					150					155					160	
25	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			
30	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	
35		210					215					220					
	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	
	225					230					235					240	
40	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			
45	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	
50		290					295					300					
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
	305					310					315					320	
55	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				
5	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
		370					375					380					
10	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		
15	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				
20	Gly	Lys															
	450																
25	<210>	91															
	<211>	689															
	<212>	Білок															
	<213>	Штучна послідовність															
30	<220>																
	<221>	джерело															
	<223>	/примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"															
35	<400>	91															
	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			
40	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	
45		50					55					60					
	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	
	65					70					75				80		
50	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			
55	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	
			115					120					125				

	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	
		130					135					140					
5	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	
	145					150					155					160	
	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	
					165					170					175		
10	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	
			195					200					205				
15	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	
	210						215					220					
	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	
20	225					230					235					240	
	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	Ser	
					245					250					255		
25	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Ala	Trp	
				260					265					270			
	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	
			275					280					285				
30	Arg	Ile	Lys	Ser	Lys	Thr	Asp	Gly	Gly	Thr	Thr	Asp	Tyr	Ala	Ala	Pro	
	290						295					300					
	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	
35	305					310				315						320	
	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	
				325						330					335		
40	Cys	Thr	Thr	Pro	Trp	Glu	Trp	Ser	Trp	Tyr	Asp	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				
45	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	
50	385					390					395					400	
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
					405					410					415		
55	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
5	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro				
	465		470		475 480
10	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
15	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn				
		515		520	525
20	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				
			550		555 560
25	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
30	Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp				
		595		600	605
35	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				
			630		635 640
40	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
45	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly				
		675		680	685
	Lys				
50	<210> 92				
	<211> 455				
	<212> Білок				
	<213> Штучна послідовність				
55	<220>				
	<221> джерело				
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний				

поліпептид"

<400> 92

5	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	
10	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	
15	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	
20	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	100	105	110	
25	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	115	120	125	
	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	130	135	140	
30	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	145	150	155	160
	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	165	170	175	
35	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	180	185	190	
40	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	195	200	205	
	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	210	215	220	
45	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	225	230	235	240
	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	245	250	255	
50	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	260	265	270	
55	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	275	280	285	
	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr				

	290		295		300	
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp					
	305		310		315	320
5	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu					
		325		330		335
10	Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg					
		340		345		350
	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys					
		355		360		365
15	Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp					
		370		375		380
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys					
	385		390		395	400
20	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser					
		405		410		415
	Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser					
25		420		425		430
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser					
		435		440		445
30	Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
		450		455		
	<210> 93					
	<211> 227					
35	<212> Білок					
	<213> Штучна послідовність					
	<220>					
	<221> джерело					
40	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний					
	поліпептид"					
	<400> 93					
45	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly					
	1	5		10		15
	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met					
		20		25		30
50	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His					
		35		40		45
	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val					
		50		55		60
55	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr					
		65		70		75
						80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

5 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

10 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

15 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

20 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

25 His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

30 <210> 94
<211> 690
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

40 <400> 94
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

45 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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

	Ala	Arg	Gly	Asp	Phe	Ala	Trp	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
				100					105					110			
5	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
			115					120					125				
	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
		130					135					140					
10	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	145					150					155					160	
	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
15					165					170					175		
	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
				180					185					190			
20	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
			195					200					205				
	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Gly	Gly	Gly	
		210					215					220					
25	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	
	225					230					235					240	
	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	
30					245					250					255		
	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	
				260					265					270			
35	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	
			275					280					285				
	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	
		290					295					300					
40	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	
	305					310					315					320	
	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	
45					325					330					335		
	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
				340					345					350			
50	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	
			355					360					365				
	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	
		370					375					380					
55	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	
	385					390					395					400	

	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	
					405					410					415		
5	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	
				420					425					430			
	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	
			435					440					445				
10	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Asp	
		450					455					460					
	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	
	465					470					475					480	
15	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				485						490					495		
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
20				500					505					510			
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
			515					520					525				
25	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
		530					535					540					
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
	545					550					555					560	
30	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	
					565					570					575		
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
35				580					585					590			
	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
			595					600					605				
40	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
		610					615					620					
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	
	625					630					635					640	
45	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	
					645					650					655		
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
50				660					665					670			
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
			675					680					685				
55	Gly	Lys															
		690															

<210> 95

<211> 447
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

10 <400> 95
 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
 15 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 20 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Pro Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 25 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 30 Ala Arg Gly Asp Phe Ala Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 35 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 40 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 45 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 50 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 55 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

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

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

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

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

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

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

20 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

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

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

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

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

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

35

<210> 96
<211> 219
<212> Білок
40 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
45 поліпептид"

<400> 96
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

50 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

55 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 5 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Ser Ile Met Asn Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 10 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 15 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 20 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 25 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 30 210 215
 <210> 97
 <211> 648
 <212> ДНК
 35 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 40 полінуклеотид"
 <220>
 <221> модифікована основа
 <222> (603)..(603)
 45 <223> а, с, т, г, невідома або інша
 <400> 97
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60
 50 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
 55 180
 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatacca acgaacatta ttatacgttc
300

5 ggccagggga ccaaagtgga aatcaaacgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc
360

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac
420

10 ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac
480

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc
15 540

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat
600

20 canggcctga gctcgcccggt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt
648

<210> 98
<211> 459
25 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
30 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 98
35 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

40 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

45 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
50 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

55 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

UA 122676 C2

	130				135				140							
5	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg
	145					150					155					160
10	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn
					165					170					175	
15	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser
				180					185					190		
20	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys
			195					200					205			
25	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr
		210					215					220				
30	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
	225					230					235					240
35	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
					245					250					255	
40	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
				260					265					270		
45	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
			275					280					285			
50	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
		290					295					300				
55	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
	305					310					315					320
60	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
					325					330					335	
65	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys
				340					345					350		
70	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp
			355					360					365			
75	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe
		370					375					380				
80	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu
	385					390					395					400
85	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
					405					410					415	
90	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly
				420					425					430		
95	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr
			435					440					445			

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

5 <210> 99
<211> 689
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

15 <400> 99
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

20 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

25 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

30 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

35 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

40 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

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

50 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

55 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		
5	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg
				260					265					270		
10	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				
15	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	
20	Asn	Phe	Gly	Ala	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
25			355					360					365			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
		370					375					380				
30	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	
35	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
40			435				440						445			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
		450				455						460				
45	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	
50	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
55			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

5 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

10 Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
595 600 605

15 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

20 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

25 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
675 680 685

Lys

30

<210> 100
<211> 689
<212> Білок
35 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
40 поліпептид"

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

45 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

50 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
50 55 60

55 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			
5																	
	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	
			115					120					125				
10	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	
15																	
	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			
20																	
	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
			195					200					205				
25	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	
30																	
	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			
35																	
	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	
			275					280					285				
40	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	
45																	
	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	
					325					330					335		
	Asn	Phe	Gly	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
			340						345					350			
50																	
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
			355					360					365				
55	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		
5	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				
10	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	
15	465					470					475					480	
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				485						490					495		
20	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				
25	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	
30	545					550					555					560	
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				565						570					575		
35	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				
40	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	
45	625					630					635					640	
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				645						650					655		
50	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				
55	Lys																

<210> 101
 <211> 441
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

10

<400> 101
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

20

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

25 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

30 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

35

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 130 135 140

40 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

45 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

50

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

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

5 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

10 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
15 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

20 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

25 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
30 405 410 415

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

35 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 102
<211> 227
40 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
45 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 102
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
50 1 5 10 15

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

55 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

UA 122676 C2

	50		55		60
	Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr				
	65		70		75
5	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr				
		85		90	95
10	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 Val Ala Ala Pro Ser Val				
		115		120	125
15	Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser				
		130		135	140
	Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln				
	145		150		155
20	Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val				
		165		170	175
25	Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu				
		180		185	190
	Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu				
		195		200	205
30	Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg				
		210		215	220
	Gly Glu Cys				
	225				
35	<210> 103				
	<211> 231				
	<212> Білок				
	<213> Штучна послідовність				
40	<220>				
	<221> джерело				
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний				
	поліпептид"				
45	<400> 103				
	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly				
	1	5		10	15
50	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
55	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

5 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

10 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Pro
115 120 125

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

15 Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
145 150 155 160

20 Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
165 170 175

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
180 185 190

25 Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
195 200 205

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
210 215 220

30 Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 104
35 <211> 118
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 104
45 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

50 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
55 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 105
<211> 118
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

20 <400> 105
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

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

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

30 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn 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

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

40 Ala Arg Gly Gly Ser Gly Gly Ser Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

45 <210> 106
<211> 120
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

55 <400> 106
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

5 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

10 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

15 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

20 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 107
<211> 118
25 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
30 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 107
35 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

55 Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 108

<211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

10 <400> 108
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
 15 20 25 30
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 20 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 25 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 30 Arg Gly Gly Ser Gly Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

35 <210> 109
 <211> 118
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

40 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

45 <400> 109
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 50 20 25 30
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 55 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 5
 Ala Arg Gly Gly Ser Gly Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 110
 <211> 109
 <212> Білок
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 20 поліпептид"
 <400> 110
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 25 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 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 35 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
 40 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 111
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 50 поліпептид"
 <400> 111
 55 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 Ser Ile Ser Ser Tyr

		20		25		30										
	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35					40					45			
5	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
10	Ser	Gly	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	Ser	Tyr	Ser	Thr	Pro	Leu
					85					90					95	
15	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
				100					105							
	<210> 112															
	<211> 109															
20	<212> Білок															
	<213> Штучна послідовність															
	<220>															
	<221> джерело															
25	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"															
	<400> 112															
30	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		
35	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
40		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
45					85					90					95	
	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu			
				100					105							
50	<210> 113															
	<211> 109															
	<212> Білок															
	<213> Штучна послідовність															
55	<220>															
	<221> джерело															
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"															

<400> 113
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 5 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 10 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Ala Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 15 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 20 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 114
 <211> 109
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 <400> 114
 35 Gln Thr 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
 40 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 50 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ala Asn
 85 90 95
 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 55 <210> 115
 <211> 122
 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 115

10 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

15 Trp Met His 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

20 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

25 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

30 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 116

<211> 122

35 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

40 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 116

45 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

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

Ser Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
50 55 60

55 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

5 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
115 120

10 <210> 117
<211> 122
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

20 <400> 117
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

25 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

30 Gly Ser 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

35 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

40 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
115 120

45 <210> 118
<211> 122
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

55 <400> 118
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

5 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

10 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

15 Tyr Cys Thr Thr Pro Tyr Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

20

<210> 119
<211> 122
<212> Білок
25 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
30 поліпептид"

<400> 119
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

40 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

45 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

50 Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Tyr Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

55

<210> 120
<211> 122

<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>

5 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 120

10 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

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

20 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Tyr Thr Ile Val Val Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

30 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 121

35 <211> 122

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

40 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 121

45 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

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

55 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 Arg 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

5 Ala Arg Asn Tyr Phe Ile Gly Ser Val Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

10 <210> 122
<211> 119
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

20 <400> 122
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

25 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

30 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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

40 Ala Arg Gly Leu Thr Tyr Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115

45 <210> 123
<211> 114
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

55 <400> 123
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 5 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 10 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 15 85 90 95
 Leu Gln Ile Pro Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 20 Arg Thr
 <210> 124
 <211> 118
 25 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 30 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 <400> 124
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 35 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 40 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 45 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 50 85 90 95
 Ala Lys Tyr Ala Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 55 Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115
 <210> 125

<211> 109
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

10 <400> 125
 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
 15 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 20 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
 25 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Gly Ser Ser Ser
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 30 100 105

<210> 126
 <211> 122
 <212> Білок
 35 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 40 поліпептид"

<400> 126
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 45 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
 50 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 55 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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 Asp Phe Ser Ala Gly Arg Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

5 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 127
10 <211> 115
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
15 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 127
20 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

25 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

35 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

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

40 Lys Arg Thr
115

<210> 128
45 <211> 119
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
50 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 128
55 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	
5		Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe					
		50		55		60	
10		Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr					
		65		70		75	
		Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
			85		90		95
15		Ala Arg Gly Asp Tyr Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Leu					
			100		105		110
		Val Thr Val Ser Ser Ala Ser					
			115				
20		<210> 129					
		<211> 113					
		<212> Білок					
		<213> Штучна послідовність					
25		<220>					
		<221> джерело					
		<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний					
		поліпептид"					
30		<400> 129					
		Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly					
		1		5		10	15
35		Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser					
			20		25		30
		Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser					
			35		40		45
40		Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro					
			50		55		60
45		Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile					
			65		70		75
		Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala					
			85		90		95
50		Trp His Ser Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg					
			100		105		110
		Thr					
55		<210> 130					
		<211> 119					
		<212> Білок					

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 130

10 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

15 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

20 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ala Thr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

30 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115

<210> 131

<211> 114

35 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

40 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 131

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

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

50 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

5 Leu Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr

10 <210> 132
<211> 112
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

20 <400> 132
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

30 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

40 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

45 Ser Ile Met Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 133
<211> 112
<212> Білок
45 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
50 поліпептид"

<400> 133
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

55 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

5 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

10 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Ser Ile Met Gln Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

15 <210> 134
<211> 112
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

25 <400> 134
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

35 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

45 Ser Ile Met Asn Arg Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 135
<211> 112
50 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
55 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 135

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 5 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 10 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 15 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 20 Ser Ile Met Asn Arg Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 136
 <211> 448
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 30 поліпептид"
 <400> 136
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 35 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 40 Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60
 45 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 50 Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 55 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	145	150	155	160
5	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln		165	170	175
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser		180	185	190
10	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser		195	200	205
15	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr		210	215	220
	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser		225	230	235
20	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg		245	250	255
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro		260	265	270
25	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala		275	280	285
30	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val		290	295	300
	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr		305	310	315
35	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr		325	330	335
	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu		340	345	350
40	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys		355	360	365
45	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser		370	375	380
	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp		385	390	395
50	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser		405	410	415
	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala		420	425	430
55	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		435	440	445

<210> 137
 <211> 691
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

10

<400> 137
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

20

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60

25 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
 65 70 75 80

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

30 Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

35

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

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

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

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

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

50

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

55 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 225 230 235 240

Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala
 245 250 255

	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	
				260					265					270			
5	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	
			275					280					285				
	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	
		290					295					300					
10	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Gln	Ser	Ile	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	
	305					310					315					320	
	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	
15					325					330					335		
	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
				340					345					350			
20	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	
			355					360					365				
	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	
		370					375					380					
25	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	
	385					390					395					400	
	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	
30					405					410					415		
	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	
				420					425					430			
35	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	
			435					440					445				
	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	
		450					455					460					
40	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	
	465					470					475					480	
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
45					485					490					495		
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
				500					505					510			
50	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			515					520					525				
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
		530					535					540					
55	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	545					550					555					560	

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 565 570 575
 5 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 580 585 590
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 595 600 605
 10 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 610 615 620
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 625 630 635 640
 15 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 645 650 655
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 660 665 670
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 675 680 685
 25 Pro Gly Lys
 690
 <210> 138
 <211> 218
 30 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 35 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 <400> 138
 40 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
 20 25 30
 45 Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Thr
 50 50 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
 55 85 90 95
 Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	
			115					120					125				
5	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	
		130					135					140					
	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	
	145					150					155					160	
10	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	
					165					170					175		
	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	
15				180					185					190			
	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	
			195					200					205				
20	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
		210					215										
	<210>	139															
	<211>	257															
25	<212>	Білок															
	<213>	Homo sapiens															
	<400>	139															
30	Met	Ala	Gln	Arg	Met	Thr	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Trp	Val	
	1				5					10					15		
	Ala	Val	Val	Gly	Glu	Ala	Gln	Thr	Arg	Ile	Ala	Trp	Ala	Arg	Thr	Glu	
				20					25					30			
35	Leu	Leu	Asn	Val	Cys	Met	Asn	Ala	Lys	His	His	Lys	Glu	Lys	Pro	Gly	
			35					40					45				
	Pro	Glu	Asp	Lys	Leu	His	Glu	Gln	Cys	Arg	Pro	Trp	Arg	Lys	Asn	Ala	
	50						55					60					
40	Cys	Cys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ser	Gln	Glu	Ala	His	Lys	Asp	Val	Ser	Tyr	
	65					70					75					80	
	Leu	Tyr	Arg	Phe	Asn	Trp	Asn	His	Cys	Gly	Glu	Met	Ala	Pro	Ala	Cys	
45					85					90					95		
	Lys	Arg	His	Phe	Ile	Gln	Asp	Thr	Cys	Leu	Tyr	Glu	Cys	Ser	Pro	Asn	
				100					105					110			
50	Leu	Gly	Pro	Trp	Ile	Gln	Gln	Val	Asp	Gln	Ser	Trp	Arg	Lys	Glu	Arg	
			115					120					125				
	Val	Leu	Asn	Val	Pro	Leu	Cys	Lys	Glu	Asp	Cys	Glu	Gln	Trp	Trp	Glu	
		130					135					140					
55	Asp	Cys	Arg	Thr	Ser	Tyr	Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Trp	His	Lys	Gly	Trp	
	145					150					155					160	

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
 165 170 175
 5 Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
 180 185 190
 Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
 195 200 205
 10 Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
 210 215 220
 Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
 225 230 235 240
 15 Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu
 245 250 255
 20 Ser
 <210> 140
 <211> 468
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 30 поліпептид"
 <400> 140
 Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala
 1 5 10 15
 35 Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln
 20 25 30
 40 Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln
 35 40 45
 Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His
 50 55 60
 45 Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr
 65 70 75 80
 Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val
 85 90 95
 50 Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys
 100 105 110
 Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys
 115 120 125
 55 Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys
 130 135 140

	Cys	Ala	Val	Gly	Ala	Ala	Cys	Gln	Pro	Phe	His	Phe	Tyr	Phe	Pro	Thr	
	145					150					155					160	
5	Pro	Thr	Val	Leu	Cys	Asn	Glu	Ile	Trp	Thr	His	Ser	Tyr	Lys	Val	Ser	
					165					170					175		
	Asn	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Met	Trp	Phe	Asp	Pro	
				180					185					190			
10	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	Arg	Phe	Tyr	Ala	Ala	Ala	
			195					200					205				
	Met	Val	Asp	Glu	Gln	Leu	Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly	Ser	Pro	Lys	Ser	Ala	
15		210					215					220					
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
	225					230					235					240	
20	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
					245					250					255		
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
				260					265					270			
25	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275					280					285				
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
30		290					295					300					
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
35	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
				340					345					350			
40	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
			355					360					365				
	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
45		370					375					380					
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
	385					390					395					400	
50	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
					405					410					415		
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
				420					425					430			
55	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
			435					440					445				

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile
450 455 460

5 Glu Trp His Glu
465

<210> 141
<211> 227
<212> Білок
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
15 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 141
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

20 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

25 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

30 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

35 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

40 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

45 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

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

50 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

55 His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

5 <210> 142
<211> 255
<212> Білок
<213> Mus musculus

10 <400> 142
Met Ala His Leu Met Thr Val Gln Leu Leu Leu Leu Val Met Trp Met
1 5 10 15

15 Ala Glu Cys Ala Gln Ser Arg Ala Thr Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu
20 25 30

Asn Val Cys Met Asp Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu
35 40 45

20 Asp Asn Leu His Asp Gln Cys Ser Pro Trp Lys Thr Asn Ser Cys Cys
50 55 60

Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Ile Ser Tyr Leu Tyr
65 70 75 80

25 Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Thr Met Thr Ser Glu Cys Lys Arg
85 90 95

30 His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly
100 105 110

Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Ile Leu
115 120 125

35 Asp Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Gln Gln Trp Trp Glu Asp Cys
130 135 140

Gln Ser Ser Phe Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp
145 150 155 160

40 Ser Ser Gly His Asn Glu Cys Pro Val Gly Ala Ser Cys His Pro Phe
165 170 175

45 Thr Phe Tyr Phe Pro Thr Ser Ala Ala Leu Cys Glu Glu Ile Trp Ser
180 185 190

His Ser Tyr Lys Leu Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile
195 200 205

50 Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala
210 215 220

Arg Phe Tyr Ala Glu Ala Met Ser Gly Ala Gly Leu His Gly Thr Trp
225 230 235 240

55 Pro Leu Leu Cys Ser Leu Ser Leu Val Leu Leu Trp Val Ile Ser
245 250 255

<210> 143
 <211> 466
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

10

<400> 143
 Thr Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asp Ala Lys His
 1 5 10 15

15

His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Asn Leu His Asp Gln Cys Ser
 20 25 30

Pro Trp Lys Thr Asn Ser Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala
 35 40 45

20

His Lys Asp Ile Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly
 50 55 60

25

Thr Met Thr Ser Glu Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu
 65 70 75 80

Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln
 85 90 95

30

Ser Trp Arg Lys Glu Arg Ile Leu Asp Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp
 100 105 110

Cys Gln Gln Trp Trp Glu Asp Cys Gln Ser Ser Phe Thr Cys Lys Ser
 115 120 125

35

Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Ser Ser Gly His Asn Glu Cys Pro
 130 135 140

40

Val Gly Ala Ser Cys His Pro Phe Thr Phe Tyr Phe Pro Thr Ser Ala
 145 150 155 160

Ala Leu Cys Glu Glu Ile Trp Ser His Ser Tyr Lys Leu Ser Asn Tyr
 165 170 175

45

Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln
 180 185 190

Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr Ala Glu Ala Met Val
 195 200 205

50

Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Pro Lys Ser Ala Asp Lys
 210 215 220

55

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu 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			
5	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					
10	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	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
15					325					330					335		
	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340					345					350			
20	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	
			355					360					365				
	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
		370					375					380					
25	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	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
30					405					410					415		
	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
				420					425					430			
35	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
			435					440					445				
	Lys	Ser	Gly	Gly	Leu	Asn	Asp	Ile	Phe	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile	Glu	Trp	
		450					455					460					
40	His	Glu															
	465																
	<210>	144															
45	<211>	257															
	<212>	Білок															
	<213>	Macaca fascicularis															
	<400>	144															
50	Met	Ala	Gln	Arg	Met	Thr	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Trp	Val	
	1				5					10					15		
	Ala	Val	Val	Gly	Glu	Ala	Gln	Thr	Arg	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Thr	Glu	
				20					25					30			
55	Leu	Leu	Asn	Val	Cys	Met	Asn	Ala	Lys	His	His	Lys	Glu	Lys	Pro	Gly	
			35					40					45				

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Lys Lys Asn Ala
50 55 60

5 Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
85 90 95

10 Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
100 105 110

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

15 Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Arg Trp Trp Glu
130 135 140

20 Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
145 150 155 160

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Pro Val Gly Ala Ala Cys Gln
165 170 175

25 Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
180 185 190

Trp Thr Tyr Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
195 200 205

30 Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
210 215 220

35 Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
225 230 235 240

Ala Trp Pro Leu Leu Leu Ser Leu Ala Leu Thr Leu Leu Trp Leu Leu
245 250 255

40 Ser

<210> 145
<211> 468
45 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 145
Arg Thr Ala Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala
55 1 5 10 15

Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln
20 25 30

	Cys	Arg	Pro	Trp	Lys	Lys	Asn	Ala	Cys	Cys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ser	Gln	
			35					40					45				
5	Glu	Ala	His	Lys	Asp	Val	Ser	Tyr	Leu	Tyr	Arg	Phe	Asn	Trp	Asn	His	
		50					55					60					
	Cys	Gly	Glu	Met	Ala	Pro	Ala	Cys	Lys	Arg	His	Phe	Ile	Gln	Asp	Thr	
	65					70				75					80		
10	Cys	Leu	Tyr	Glu	Cys	Ser	Pro	Asn	Leu	Gly	Pro	Trp	Ile	Gln	Gln	Val	
					85					90					95		
	Asp	Gln	Ser	Trp	Arg	Lys	Glu	Arg	Val	Leu	Asn	Val	Pro	Leu	Cys	Lys	
15				100					105					110			
	Glu	Asp	Cys	Glu	Gln	Trp	Trp	Glu	Asp	Cys	Arg	Thr	Ser	Tyr	Thr	Cys	
			115					120					125				
20	Lys	Ser	Asn	Trp	His	Lys	Gly	Trp	Asn	Trp	Thr	Ser	Gly	Phe	Asn	Lys	
		130					135					140					
	Cys	Pro	Val	Gly	Ala	Ala	Cys	Gln	Pro	Phe	His	Phe	Tyr	Phe	Pro	Thr	
	145					150					155					160	
25	Pro	Thr	Val	Leu	Cys	Asn	Glu	Ile	Trp	Thr	Tyr	Ser	Tyr	Lys	Val	Ser	
					165				170						175		
	Asn	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Met	Trp	Phe	Asp	Pro	
30				180					185					190			
	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	Arg	Phe	Tyr	Ala	Ala	Ala	
			195					200					205				
35	Met	Val	Asp	Glu	Gln	Leu	Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly	Ser	Pro	Lys	Ser	Ala	
		210					215					220					
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
	225					230				235						240	
40	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
					245					250					255		
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
45				260					265					270			
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275					280					285				
50	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
		290					295					300					
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
55	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		

	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
				340					345					350			
5	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
			355					360					365				
	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
		370					375					380					
10	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
	385					390					395					400	
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
					405					410					415		
15	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
				420					425					430			
20	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
			435					440					445				
	Pro	Gly	Lys	Ser	Gly	Gly	Leu	Asn	Asp	Ile	Phe	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile	
		450					455					460					
25	Glu	Trp	His	Glu													
	465																
	<210>	146															
	<211>	255															
30	<212>	Білок															
	<213>	Homo sapiens															
	<400>	146															
35	Met	Val	Trp	Lys	Trp	Met	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Cys	Val	Ala	
	1				5					10					15		
	Thr	Met	Cys	Ser	Ala	Gln	Asp	Arg	Thr	Asp	Leu	Leu	Asn	Val	Cys	Met	
				20					25					30			
40	Asp	Ala	Lys	His	His	Lys	Thr	Lys	Pro	Gly	Pro	Glu	Asp	Lys	Leu	His	
			35					40					45				
	Asp	Gln	Cys	Ser	Pro	Trp	Lys	Lys	Asn	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Ser	Thr	
		50					55					60					
45	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Lys	Asp	Thr	Ser	Arg	Leu	Tyr	Asn	Phe	Asn	Trp	
	65					70					75					80	
	Asp	His	Cys	Gly	Lys	Met	Glu	Pro	Ala	Cys	Lys	Arg	His	Phe	Ile	Gln	
50					85					90					95		
	Asp	Thr	Cys	Leu	Tyr	Glu	Cys	Ser	Pro	Asn	Leu	Gly	Pro	Trp	Ile	Gln	
				100					105					110			
55	Gln	Val	Asn	Gln	Ser	Trp	Arg	Lys	Glu	Arg	Phe	Leu	Asp	Val	Pro	Leu	
			115					120					125				
	Cys	Lys	Glu	Asp	Cys	Gln	Arg	Trp	Trp	Glu	Asp	Cys	His	Thr	Ser	His	

	130		135		140	
	Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Arg Gly Trp Asp Trp Thr Ser Gly Val					
	145		150		155	160
5	Asn Lys Cys Pro Ala Gly Ala Leu Cys Arg Thr Phe Glu Ser Tyr Phe		165	170	175	
	Pro Thr Pro Ala Ala Leu Cys Glu Gly Leu Trp Ser His Ser Tyr Lys		180	185	190	
10	Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe		195	200	205	
	Asp Ser Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr Ala		210	215	220	
	Ala Ala Met His Val Asn Ala Gly Glu Met Leu His Gly Thr Gly Gly		225	230	235	240
20	Leu Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Gln Leu Trp Leu Leu Gly		245	250	255	
	<210> 147					
25	<211> 472					
	<212> Білок					
	<213> Штучна послідовність					
	<220>					
30	<221> джерело					
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"					
	<400> 147					
35	Thr Met Cys Ser Ala Gln Asp Arg Thr Asp Leu Leu Asn Val Cys Met		5	10	15	
	1					
	Asp Ala Lys His His Lys Thr Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys Leu His		20	25	30	
40	Asp Gln Cys Ser Pro Trp Lys Lys Asn Ala Cys Cys Thr Ala Ser Thr		35	40	45	
	Ser Gln Glu Leu His Lys Asp Thr Ser Arg Leu Tyr Asn Phe Asn Trp		50	55	60	
45	Asp His Cys Gly Lys Met Glu Pro Ala Cys Lys Arg His Phe Ile Gln		65	70	75	80
	Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln		85	90	95	
50	Gln Val Asn Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Phe Leu Asp Val Pro Leu		100	105	110	
55	Cys Lys Glu Asp Cys Gln Arg Trp Trp Glu Asp Cys His Thr Ser His		115	120	125	

	Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Trp	His	Arg	Gly	Trp	Asp	Trp	Thr	Ser	Gly	Val	
	130						135					140					
5	Asn	Lys	Cys	Pro	Ala	Gly	Ala	Leu	Cys	Arg	Thr	Phe	Glu	Ser	Tyr	Phe	
	145					150					155					160	
	Pro	Thr	Pro	Ala	Ala	Leu	Cys	Glu	Gly	Leu	Trp	Ser	His	Ser	Tyr	Lys	
					165					170					175		
10	Val	Ser	Asn	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Met	Trp	Phe	
				180					185					190			
	Asp	Ser	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	Arg	Phe	Tyr	Ala	
			195					200					205				
15	Ala	Ala	Met	His	Val	Val	Asp	Glu	Gln	Leu	Tyr	Phe	Gln	Gly	Gly	Ser	
	210						215					220					
	Pro	Lys	Ser	Ala	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	
20	225					230					235					240	
	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
					245					250					255		
25	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
				260					265					270			
	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
			275					280					285				
30	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	
	290						295					300					
	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	
35	305					310					315					320	
	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	
					325					330					335		
40	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	
				340					345					350			
	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	
			355					360					365				
45	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	
	370						375					380					
	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	
50	385					390					395					400	
	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	
					405					410					415		
55	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	
				420					425					430			
	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	

	435		440		445												
	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Gly	Gly	Leu	Asn	Asp	Ile	Phe	Glu	
	450						455					460					
5	Ala	Gln	Lys	Ile	Glu	Trp	His	Glu									
	465					470											
10	<210>	148															
	<211>	243															
	<212>	Білок															
	<213>	Homo sapiens															
15	<400>	148															
	Met	Ala	Trp	Gln	Met	Met	Gln	Leu	Leu	Leu	Leu	Ala	Leu	Val	Thr	Ala	
	1				5					10					15		
20	Ala	Gly	Ser	Ala	Gln	Pro	Arg	Ser	Ala	Arg	Ala	Arg	Thr	Asp	Leu	Leu	
				20					25					30			
	Asn	Val	Cys	Met	Asn	Ala	Lys	His	His	Lys	Thr	Gln	Pro	Ser	Pro	Glu	
			35					40					45				
25	Asp	Glu	Leu	Tyr	Gly	Gln	Cys	Ser	Pro	Trp	Lys	Lys	Asn	Ala	Cys	Cys	
	50						55					60					
	Thr	Ala	Ser	Thr	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Lys	Asp	Thr	Ser	Arg	Leu	Tyr	
	65					70					75				80		
30	Asn	Phe	Asn	Trp	Asp	His	Cys	Gly	Lys	Met	Glu	Pro	Thr	Cys	Lys	Arg	
					85					90					95		
	His	Phe	Ile	Gln	Asp	Ser	Cys	Leu	Tyr	Glu	Cys	Ser	Pro	Asn	Leu	Gly	
				100					105					110			
35	Pro	Trp	Ile	Arg	Gln	Val	Asn	Gln	Ser	Trp	Arg	Lys	Glu	Arg	Ile	Leu	
			115					120					125				
	Asn	Val	Pro	Leu	Cys	Lys	Glu	Asp	Cys	Glu	Arg	Trp	Trp	Glu	Asp	Cys	
40	130						135					140					
	Arg	Thr	Ser	Tyr	Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Trp	His	Lys	Gly	Trp	Asn	Trp	
	145					150					155				160		
45	Thr	Ser	Gly	Ile	Asn	Glu	Cys	Pro	Ala	Gly	Ala	Leu	Cys	Ser	Thr	Phe	
					165					170					175		
	Glu	Ser	Tyr	Phe	Pro	Thr	Pro	Ala	Ala	Leu	Cys	Glu	Gly	Leu	Trp	Ser	
				180					185					190			
50	His	Ser	Phe	Lys	Val	Ser	Asn	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	
			195					200					205				
	Gln	Met	Trp	Phe	Asp	Ser	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	
55	210						215					220					
	Lys	Phe	Tyr	Ala	Ala	Ala	Met	Asn	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Arg	Gly	Ile	
	225					230					235				240		

Ile Asp Ser

5 <210> 149
 <211> 479
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

15 <400> 149
 Ser Ala Arg Ala Arg Thr Asp Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys
 1 5 10 15

20 His His Lys Thr Gln Pro Ser Pro Glu Asp Glu Leu Tyr Gly Gln Cys
 20 25 30

Ser Pro Trp Lys Lys Asn Ala Cys Cys Thr Ala Ser Thr Ser Gln Glu
 35 40 45

25 Leu His Lys Asp Thr Ser Arg Leu Tyr Asn Phe Asn Trp Asp His Cys
 50 55 60

Gly Lys Met Glu Pro Thr Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Ser Cys
 65 70 75 80

30 Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Arg Gln Val Asn
 85 90 95

Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Ile Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu
 100 105 110

35 Asp Cys Glu Arg Trp Trp Glu Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys
 115 120 125

40 Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Thr Ser Gly Ile Asn Glu Cys
 130 135 140

Pro Ala Gly Ala Leu Cys Ser Thr Phe Glu Ser Tyr Phe Pro Thr Pro
 145 150 155 160

45 Ala Ala Leu Cys Glu Gly Leu Trp Ser His Ser Phe Lys Val Ser Asn
 165 170 175

Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Ser Ala
 180 185 190

50 Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Lys Phe Tyr Ala Ala Ala Met
 195 200 205

55 Asn Ala Gly Ala Pro Ser Arg Gly Ile Ile Asp Ser Val Asp Glu Gln
 210 215 220

Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr

UA 122676 C2

	225				230					235					240	
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
					245					250					255	
5	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
				260					265					270		
10	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
			275					280					285			
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
		290					295					300				
15	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	305					310					315					320
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
					325					330					335	
20	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				340					345					350		
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
25			355					360					365			
	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val
		370					375					380				
30	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	385					390					395					400
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
					405					410					415	
35	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				420					425					430		
	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
40			435					440					445			
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Gly
		450					455					460				
45	Gly	Leu	Asn	Asp	Ile	Phe	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile	Glu	Trp	His	Glu	
	465					470					475					
	<210> 150															
	<211> 207															
50	<212> Білок															
	<213> Homo sapiens															
	<400> 150															
55	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

5 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

10 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
15 100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125

20 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

25 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
30 180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

35 <210> 151
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 151
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cggttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
50 120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

55 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

5 tacgctgggtg ttactccggt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

<210> 152
<211> 360
<212> ДНК
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
15 полінуклеотид"

<400> 152
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
25 180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

30 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

tacatcggtg ttgttacttt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

35 <210> 153
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
45 полінуклеотид"

<400> 153
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

50 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

55 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

5 tacactgggtg gttcttctgc tttcgactat tgggggtcaag gcaccctcgt aacggtttct
360

tct
363

10 <210> 154
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

15 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"

20 <220>
 <221> модифікована основа
 <222> (47)..(47)
 <223> а, с, т, г, невідома або інша

25 <400> 154
 caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgnttc cgttaaagtg
 60

30 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcaactgggt tcgtcaagcc
120

ccggggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

35 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgaa
300

40 tggcgtcgtt acacttcttt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

45 <210> 155
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"

55 <400> 155
 caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

5 cggggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

10 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtggg
300

tggatccgtt gggaacattt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

15 <210> 156
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

25 <400> 156
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

30 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccggggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

35 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

40 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

tacctgttct ctacttcttt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

45 <210> 157
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

55 <400> 157
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgag gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

5 cccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

10 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

tacatcggta tcgttccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

15 <210> 158
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

25 <400> 158
gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtgggtggt ctggtaaaac cgggcgggtc cctgcgtctg
60

30 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

35 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

40 ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

45 <210> 159
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

55 <220>
<221> модифікована основа
<222> (53)..(53)
<223> а, с, т, г, невідома або інша

<400> 159
gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc ccngcgtctg
60

5
agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

10
ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

15
ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaacc gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

ccgtgggaat ggtcttactt cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

20
<210> 160
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

25
<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

30
<400> 160
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

35
agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

40
gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

45
tacgttggtg tttctccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

50
<210> 161
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

55
<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<220>
 <221> модифікована основа
 <222> (47)..(47)
 5 <223> а, с, т, г, невідома або інша

 <220>
 <221> модифікована основа
 <222> (177)..(177)
 10 <223> а, с, т, г, невідома або інша

 <400> 161
 caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgnttc cgttaaagtg
 60
 15 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccggggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcntac
 20 180
 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 25 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaacttc
 300
 actgttctgc gtgttccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
 360
 30
 <210> 162
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"
 40
 <400> 162
 gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg
 60
 45 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
 120
 ccggggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
 180
 50 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
 240
 ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
 55 300
 ccgtgggaat gggcttggtt cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
 360

<210> 163
 <211> 360
 <212> ДНК
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 10 полінуклеотид"

 <400> 163
 gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg
 60
 15 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
 120
 ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
 20 180
 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
 240
 25 ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaacc gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
 300
 ccttggaat gggcttactt cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
 360
 30
 <210> 164
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 40 полінуклеотид"

 <400> 164
 caggtgcaat tggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 45 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
 180
 50 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcactggt
 55 300
 tggctctcgtt ggggttacat ggactattgg ggccaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
 360

<210> 165
 <211> 360
 <212> ДНК
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 10 полінуклеотид"

 <400> 165
 caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 15 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
 20 180
 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 25 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgaa
 300
 tggatccgtt actaccattt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
 360
 30
 <210> 166
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"
 40
 <400> 166
 caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 45 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
 180
 50 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcgttggt
 55 300
 tggtagcgtt ggggttacat ggactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
 360

<210> 167
 <211> 363
 <212> ДНК
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 10 полінуклеотид"

 <400> 167
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60
 15 tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaaactac
 20 180
 gcacagaagt tccagggcag ggtaaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 240
 25 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagagctggt
 300
 ttctaccgtg cttggtactc ttctgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
 360
 30 tca
 363
 <210> 168
 35 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 40 полінуклеотид"

 <400> 168
 45 gacatccaga tgaccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc
 60
 atcacttgcc gtgccagtca gagtattagt agctggttgg cctggatatca gcagaaacca
 120
 50 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca
 180
 cgtttcagcg gcagtggatc cgggacagaa ttactctca ccatcagcag cttgcagcct
 55 240
 gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataccagcc caccaccaac gtttggccag
 300

ggcaccsaaag tcgagatcaa g
321

5 <210> 169
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 169
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccsaa gcggtggctc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc
300

30 ttcactgggt tccatctgga ctattgggggt caaggcaccc tcgtaacggt ttcttct
357

35 <210> 170
<211> 327
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 170
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

50 cctggccagg ctcccagggt cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtggt atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
55 240

cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatacca acgaacatta ttatacgttc
300

ggccagggga ccaaagtgga aatcaaa
327

5 <210> 171
<211> 351
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 171
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

30 ttcgcttggc tggactattg ggggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc t
351

35 <210> 172
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 172
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

50 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

55 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac
300

cggaacttttg gtcaaggcac caagggtcgaa attaaa
336

5 <210> 173
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 173
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

20 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

25 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggctgt tattactgta tgcaggcaag cattatgagc
300

30 cggaacttttg gtcaaggcac caagggtcgaa attaaa
336

35 <210> 174
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 174
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

50 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

55 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggctgt tattactgta tgcaggcaag cattatgcag
300

cggaactttttg gtcaaggcac caagggtcgaa attaaa
336

5 <210> 175
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 175
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

20 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

25 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggctgt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac
300

30
cggaactttttg gtcaaggcac caagggtcgaa attaaa
336

35 <210> 176
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 176
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

50 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

55 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggctgt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac
300

cggaattttg gtcaaggcac caaggctgaa attaaa
336

5 <210> 177
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 177
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggctgctc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctcttac
300

30 atcgacatgg actattgggg tcaaggcacc ctcgtaacgg tttctttct
348

35 <210> 178
<211> 321
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 178
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcttgca gggccagtca gagggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

50 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

55 gacaggttca gtggcagtggt atccgggaca gacttcaact tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggataact ggagcccaac gttcggccag
300

gggaccsaaag tggaaatcaa a
321

5 <210> 179
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 179
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctcttac
300

30 gttgacatgg actattgggg tcaaggcacc ctcgtaacgg tttctttct
348

<210> 180
35 <211> 321
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 180
45 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctacc tagcctggta ccagcagaaa
120

50 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtggt atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
55 240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag caggatattt ggagcccaac gttcggccag
300

gggaccsaaag tggaaatcaa a
321

5 <210> 181
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 181
gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

20 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

25 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgttat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagactct
300

30 tcttacgttg aatggtacgc ttctgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg
360

35 agt
363

40 <210> 182
<211> 324
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 182
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

50 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
55 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gactccactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagccaacca gcagcccaat tacgttcggc
300

5 caggggacca aagtggaaat caaa
324

<210> 183
<211> 684
10 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
15 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 183
gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
20 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
120

25 cctggcaaaag gcctggaatg ggtgtccccg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
180

tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
240
30 ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
300

cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc
35 360

gtgaccgtgt caagcgctag taccaagggc cccagcgtgt tccccctggc acccagcagc
420

40 aagagcacat ctggcggaac agccgctctg ggctgtctgg tgaaagacta cttccccgag
480

cccgtgaccg tgtcttgga ctctggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac ctttccagcc
540
45 gtgctgcaga gcagcggcct gtactccctg tcctccgtgg tcaccgtgcc ctctagctcc
600

ctgggaacac agacatatat ctgtaatgtc aatcacaagc cttccaacac caaagtcgat
50 660

aagaaagtcg agcccaagag ctgc
684

55 <210> 184
<211> 696
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 5 полінуклеотид"

 <400> 184
 gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60
 10 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
 120
 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
 15 180
 tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
 240
 20 ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
 300
 cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc
 360
 25 gtgaccgtgt caagcgctag tgtggccgct ccctccgtgt ttatctttcc cccatccgat
 420
 gaacagctga aaagcggcac cgctccgtc gtgtgtctgc tgaacaattt ttaccctagg
 30 480
 gaagctaaag tgcagtggaa agtggataac gcactgcagt ccggcaactc ccaggaatct
 540
 35 gtgacagaac aggactccaa ggacagcacc tactccctgt cctccaccct gacactgtct
 600
 aaggctgatt atgagaaaca caaagtctac gcctgcgaag tcacccatca gggcctgagc
 660
 40 tcgcccgtca caaagagctt caacagggga gagtgt
 696

 <210> 185
 45 <211> 36
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 50 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 праймер"

 <400> 185
 55 gcaggcaagc attatgcagc ggacttttgg tcaagg
 36
 <210> 186

<211> 35
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 праймер"

10 <400> 186
 caggcaagca ttatgagccg gacttttggt caagg
 35

15 <210> 187
 <211> 37
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

20 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 праймер"

25 <400> 187
 cattatgaac cgggcttttg gtcaaggcac caaggtc
 37

30 <210> 188
 <211> 37
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

35 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 праймер"

40 <400> 188
 cattatgaac cggaattttg gtcaaggcac caaggtc
 37

45 <210> 189
 <211> 2067
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"

55 <400> 189
 gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg
 60
 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
 120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

5 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

10 ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

gctagcacia agggccctag cgtgttccct ctggcccccga gcagcaagag cacaagcggc
420

15 ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct
480

20 tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc
540

ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg caccagacc
600

25 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc
660

aagagctgtg atggcggagg agggtcgga ggccgaggat ccgaggtgca gctgctggaa
720

30 tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc
780

35 ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa
840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg
900

40 aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac
960

agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac
1020

45 agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgt
1080

50 agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg
1200

55 aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat
1320

5 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
1440

10 tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag
1500

gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
1560

15 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1620

20 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1740

25 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
1800

accaagaacc aggtcagcct gtgggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1860

30 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgctgctg
1920

35 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
2040

40 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
2067

<210> 190
<211> 1350

45 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело

50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 190

55 gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg
60

agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

5 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

10 ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc
15 420

ggcacagccg ctctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc
480

20 tggaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct
540

ggcctgtata gcctgagcag cgtgggtcacc gtgccttcta gcagcctggg caccagacc
600

25 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc
660

aagagctgcg acaaaaactca cacatgccca ccgtgccag cacctgaagc tgcaggggga
30 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacacc tcctgatctc ccggaccctt
780

35 gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
900

40 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag
960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc
45 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcaccc tgccccatc ccgggatgag
1080

50 ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1200

55 ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccgcttcacg
1320

5 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
1350

<210> 191
<211> 645
<212> ДНК
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
15 полінуклеотид"

<400> 191
caggccgtcg tgaccscagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
60
20 acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa
120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc
25 180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc
240

30 cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc
300

ggcggaggca ccaagctgac agtcctaggt caaccsaagg ctgccccag cgtgaccctg
360
35 ttccccccca gcagcgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctgggtctg cctgatcagc
420

gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc
40 480

ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac
540

45 ctgagcctga ccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgcca ggtgaccac
600

gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagc
645
50

<210> 192
<211> 2067
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
55

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

полінуклеотид"

<400> 192
 5 gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60
 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
 120
 10 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
 180
 tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
 240
 15 ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
 300
 cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcacccctc
 20 360
 gtgaccgtgt catctgctag cacaaagggc cctagcgtgt tccctctggc cccagcagc
 420
 25 aagagcacia gcggcggaac agccgccctg ggctgcctcg tgaaggacta cttccccgag
 480
 cccgtgacag tgtcttgaa cagcggagcc ctgacaagcg gcgtgcacac cttccctgcc
 540
 30 gtgctgcaga gcagcggcct gtactccctg agcagcgtgg tcaccgtgcc tagcagcagc
 600
 ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aaccacaagc ccagcaacac caaagtggac
 35 660
 aagaaggtgg agccaagag ctgtgatggc ggaggagggt ccggaggcgg aggatccgag
 720
 40 gtgcaattgg ttgaatctgg tgggtggtctg gtaaaaccgg gcggttccct gcgtctgagc
 780
 tgcgcggctt ccggattcac cttctccaac gcgtggatga gctgggttcg ccaggccccg
 840
 45 ggcaaaggcc tcgagtgggt tggctgtatc aagtctaaaa ctgacggtgg caccacggat
 900
 tacgcggctc cagttaaagg tcgttttacc atttcccgcg acgatagcaa aaacactctg
 50 960
 tatctgcaga tgaactctct gaaaactgaa gacaccgcag tctactactg tactacccccg
 1020
 55 tgggaatggt cttggtacga ttattggggc cagggcacgc tggttacggt gtctagcgct
 1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
 1140
 5 acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtagc cgtgtcttgg
 1200
 aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
 1260
 10 ctgtactccc tgtcctccgt ggtcacccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat
 1320
 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
 1380
 15 agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
 1440
 20 tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag
 1500
 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
 1560
 25 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
 1620
 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
 1680
 30 tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
 1740
 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
 1800
 35 accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
 1860
 40 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
 1920
 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
 1980
 45 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
 2040
 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
 50 2067
 <210> 193
 <211> 1365
 <212> ДНК
 55 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"

<400> 193

5 gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
120

10 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
180

15 tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
240

ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
300

20 cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc
360

gtgaccgtgt catctgctag caccaagggc ccatcgggtc tccccctggc accctcctcc
420

25 aagagcacct ctggggggcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa
480

30 ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccggt
540

gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc
600

35 ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac
660

aagaaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct
720

40 gaagctgcag ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg
780

atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag
840

45 gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg
900

50 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac
960

tggtgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctcgg cgtccccatc
1020

55 gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc
1080

ccatgccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc
1140

5 tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag
1200

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcacccgtg
1260

10 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg
1320

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaa
1365

15 <210> 194
<211> 681
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

25 <400> 194
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc a gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc
60

30 ttctcttctc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
120

tgctgtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
180

35 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
240

40 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
300

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
360

45 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
420

aaccagggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
480

50 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
540

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
600

55 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accgcttcac gcagaagagc
660

ctctccctgt ctccgggtaa a
681

5 <210> 195
<211> 2070
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 195
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

30 ttcgcttggc tggactattg ggggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcaca
360

35 aagggcccca gcgtgttccc tctggccccct agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc
420

gccctgggct gcctcgtaga ggactacttt cccgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct
480

40 ggcgcctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac
540

tctctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc
600

45 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaa gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt
660

50 gatggcggag gaggggtccgg aggcggagga tccgaggtgc agctgctgga atctggcggc
720

ggactggtgc agcctggcgg atctctgaga ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc
780

55 agcacctacg ccatgaactg ggtgcgccag gccctggca aaggcctgga atgggtgtcc
840

cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg
 900
 5 ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg
 960
 gccgaggaca ccgccgtgta ctattgtgtg cggcacggca acttcggcaa cagctatgtg
 1020
 10 tcttggtttg cctactgggg ccagggcacc ctctgtgacc tgtcaagcgc tagtgtggcc
 1080
 gctccctccg tgtttatctt tccccatcc gatgaacagc tgaaaagcgg caccgcctcc
 1140
 15 gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttttaccct agggaagcta aagtgcagtg gaaagtggat
 1200
 aacgcactgc agtccggcaa ctcccaggaa tctgtgacag aacaggactc caaggacagc
 20 1260
 acctactccc tgtcctccac cctgacactg tctaaggctg attatgagaa acacaaagtc
 1320
 25 tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg
 1380
 ggagagtgtg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccctgaagc tgctggcggc
 1440
 30 ccttctgtgt tcctgttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc
 1500
 gaagtgcact gcgtggtggt ggatgtgtcc cacgaggacc ctgaagtga gttcaattgg
 35 1560
 tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
 1620
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag
 40 1680
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc
 1740
 45 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatg ccgggatgag
 1800
 ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
 50 1860
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
 1920
 55 ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
 1980

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
2040

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
5 2070

<210> 196
<211> 1341
<212> ДНК
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
15 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 196
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

25 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac
180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

30 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

ttcgcttggc tggactattg ggggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcacc
360

35 aagggccctt ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc
420

40 gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc
480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat
540

45 agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcaccagac ctacatctgc
600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc
660

50 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
780

55 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
900

5 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
1020

10 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
1080

15 aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
1200

20 gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1320

25 ctctccctgt ctccgggtaa a
1341

<210> 197
30 <211> 657
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
35 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 197
40 gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

45 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
50 240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcaag cattatgaac
300

55 cggacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaacgta cggtggtgctc accatctgtc
360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg
420

5 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa
480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc
540

10 agcagcacc c tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcttgcgaa
600

gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt
657

15 <210> 198
<211> 642
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

25 <400> 198
caggccgtcg tgaccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
60

30 acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa
120

aagcccggcc aggccttcag aggactgac gccggcacca acaagagagc ccctggcacc
180

35 cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc
240

40 cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc
300

ggcggaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgcttcca ccaaaggccc ttccgtgttt
360

45 cctctggctc ctagctccaa gtccacctct ggaggaccg ctgctctcgg atgcctcgtg
420

aaggattatt ttctgagcc tgtgacagtg tcctggaata gcggagcact gacctctgga
480

50 gtgcatactt tccccgctgt gctgcagtcc tctggactgt acagcctgag cagcgtggtg
540

55 acagtgccca gcagcagcct gggcaccag acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc
600

agcaacacca aggtggacaa gaagggtgaa cccaagtctt gt
642

<210> 199
 <211> 1377
 <212> ДНК
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 10 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"

 <400> 199
 gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60
 15 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
 120
 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
 20 180
 tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
 240
 25 ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
 300
 cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcacccct
 360
 30 gtgaccgtgt catctgctag cgtggccgct cctccgtgt ttatctttcc cccatccgat
 420
 gaacagctga aaagcggcac cgcctccgtc gtgtgtctgc tgaacaattt ttaccctagg
 35 480
 gaagctaaag tgcagtggaa agtggataac gactgcagt ccggcaactc ccaggaatct
 540
 40 gtgacagaac aggactccaa ggacagcacc tactccctgt cctccaccct gacactgtct
 600
 aaggctgatt atgagaaaca caaagtctac gcctgcgaag tcacccatca gggcctgagc
 660
 45 tcgcccgtca caaagagctt caacagggga gagtgtgaca agaccacac ctgtccccct
 720
 tgtcctgccc ctgaagctgc tggcggccct tctgtgttcc tgttcccccc aaagcccaag
 50 780
 gacaccctga tgatcagccg gacccccgaa gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtcccac
 840
 55 gaggaccctg aagtgaagtt caattggtac gtggacggcg tggaagtgca caacgccaaag
 900

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc
 960
 5 ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc
 1020
 ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg
 1080
 10 tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg
 1140
 gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag
 1200
 15 aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc
 1260
 aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg
 20 1320
 catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
 1377
 25 <210> 200
 <211> 2067
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 30 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"
 35 <400> 200
 gaggtgcaat tggttgaatc tgggtggtgg tgggtaaaac cgggcgggtc cctgcgtctg
 60
 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
 40 120
 ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
 180
 45 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
 240
 ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
 300
 50 ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
 360
 gctagcacia agggccctag cgtgttccct ctggcccca gcagcaagag cacaagcggc
 55 420
 ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct
 480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc
540

5 ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg caccagacc
600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc
660

10 aagagctgtg atggcggagg aggggtccgga ggcggaggat ccgagggtgca gctgctggaa
720

15 tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc
780

ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa
840

20 tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg
900

aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac
960

25 agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcgcc
1020

30 agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgacctg gtcaagcgt
1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
1140

35 acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg
1200

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
1260

40 ctgtactccc tgtcctccgt ggtcacccgt ccctctagct ccctgggaac acagacatat
1320

45 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
1440

50 tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag
1500

gtcacatgcg tgggtggtga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
1560

55 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1620

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
1680

5 tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgcccca tcgagaaaac catctccaaa
1740

gccaaagggc agcccccaga accacagggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
1800

10 accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
1920

15 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1980

20 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
2067

25 <210> 201
<211> 2067
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

35 <400> 201
gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtgggtggt ctggtaaaac cgggcgggtc cctgcgtctg
60

40 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

45 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

50 ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

gctagcacaag agggccctag cgtgttccct ctggcccca gcagcaagag cacaagcggc
420

55 ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct
480

tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc
540

5 ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg caccagacc
600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc
660

10 aagagctgtg atggcggagg aggggtccgga ggcggaggat ccgagggtgca gctgctggaa
720

15 tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc
780

ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa
840

20 tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg
900

aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac
960

25 agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac
1020

30 gcctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcaagcgt
1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
1140

35 acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg
1200

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gacagcggc
1260

40 ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat
1320

45 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
1440

50 tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag
1500

gtcacatgcg tgggtggtga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
1560

55 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1620

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
1680

5 tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1740

gccaaagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
1800

10 accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
1920

15 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1980

20 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
2040

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
2067

25 <210> 202
<211> 1323
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

35 <400> 202
caggccgtcg tgaccscagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
60

40 acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa
120

aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc
180

45 cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc
240

cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc
300

50 ggcggaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc
360

55 ccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc
420

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc
480

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg
540

5 accgtgccct ccagcagctt gggcaccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc
600

agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc
660

10 ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa
720

15 cccaaggaca ccctcatgat ctcccgacc cctgagggtca catgcgtggt ggtggacgtg
780

agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat
840

20 gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtag aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc
900

accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa
960

25 gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca
1020

30 caggtgtaca ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc
1080

tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag
1140

35 ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc
1200

tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc
1260

40 gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt
1320

aaa
45 1323

<210> 203
<211> 681
<212> ДНК
50 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
55 полінуклеотид"

<400> 203

gaggtgcaat tggttgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg
60

5 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

10 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

15 ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

20 gctagcgtgg ccgctccctc cgtgttcatc ttcccacctt ccgacgagca gctgaagtcc
420

ggcaccgctt ctgtcgtgtg cctgctgaac aacttctacc cccgcgaggc caaggtgcag
480

25 tggaaggtgg acaacgccct gcagtcgggc aacagccagg aatccgtgac cgagcaggac
540

tccaaggaca gcacctactc cctgtcctcc accctgacct tgtccaaggc cgactacgag
600

30 aagcacaagg tgtacgcctg cgaagtgacc caccagggcc tgtctagccc cgtgaccaag
660

tctttcaacc ggggcgagtg c
681

35

<210> 204
<211> 693
<212> ДНК
40 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
45 полінуклеотид"

<400> 204
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
60

50 tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc acctacgcca tgaactgggt gcgacaggct
120

cctggcaagg gcctggaatg ggtgtcccgg atcagatcca agtacaacaa ctacgccacc
180

55 tactacgccg actccgtgaa gggccgggtc accatctctc gggacgactc caagaacacc
240

ctgtacctgc agatgaactc cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
300

5 caccggcaact tcggcaactc ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc
360

gtgaccgtgt catctgctag ccccaaggct gccccagcg tgaccctgtt tccccccagc
420

10 agcgaggaac tgcaggccaa caaggccacc ctggtctgcc tgatcagcga cttctaccca
480

15 ggcgccgtga ccgtggcctg gaaggccgac agcagccccg tgaaggccgg cgtggagacc
540

accaccccca gcaagcagag caacaacaag tacgccgcca gcagctacct gacccctgacc
600

20 cccgagcagt ggaagagcca caggctctac agctgccagg tgaccacga gggcagcacc
660

gtggagaaaa ccgtggcccc caccgagtgc agc
693

25 <210> 205
<211> 327
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

35 <400> 205
cagaccgtcg tgaccsagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
60

40 acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcagcag
120

aagccaggcc aggctcccag aggactgatc ggcggcacca acgccagagc ccctggcacc
180

45 cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgtg
240

cagcctgaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc
300

50 ggcggaggca ccaagctgac agtccta
327

55 <210> 206
<211> 327
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 5 полінуклеотид"

 <400> 206
 cagaccgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
 60
 10 acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcagcag
 120
 aagccaggcc aggctcccag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc
 15 180
 cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgtg
 240
 20 cagcctgaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acgccaacct gtgggtgttc
 300
 ggcggaggca ccaagctgac agtccta
 327
 25
 <210> 207
 <211> 366
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 35 полінуклеотид"
 <400> 207
 gaggtgcaat tgggtgaaag cggaggcggc ctctgaagc ctggcggatc tctgagactg
 60
 40 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgcactgggt gcgccaggcc
 120
 cctggaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc
 180
 45 gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
 240
 ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
 50 300
 ccctgggagt ggtcttggtg cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct
 360
 55 gctagc
 366
 <210> 208

<211> 366
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"

10 <400> 208
 gaggtgcaat tgggtgaaaag cggagggcggc ctctgtgaagc ctggcggatc tctgagactg
 60

15 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
 120

cctggaaaaag gactcgagtg ggtgtcccgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc
 180

20 gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
 300

25 ccctgggagt ggtcttggtg cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct
 360

gctagc
 30 366

<210> 209
 <211> 366
 <212> ДНК
 35 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 40 полінуклеотид"

<400> 209
 gaggtgcaat tgggtgaaaag cggagggcggc ctctgtgaagc ctggcggatc tctgagactg
 60

45 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
 120

cctggaaaaag gactcgagtg ggtgggatct atcaagagca agaccgacgg cggcaccacc
 50 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
 240

55 ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
 300

ccctgggagt ggtcttggtgta cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct
360

5 gctagc
366

<210> 210
<211> 366
<212> ДНК
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
15 полінуклеотид"

<400> 210
gaggtgcaat tgggtgaaaag cggaggcggc ctctgaagc ctggcggatc tctgagactg
60
20 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
120

cctgaaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc
25 180

gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
240

30 ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
300

ccctacgagt ggtcttggtgta cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct
360
35 gctagc
366

<210> 211
40 <211> 366
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
45 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 211
50 gaggtgcaat tgggtgaaaag cggaggcggc ctctgaagc ctggcggatc tctgagactg
60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
120
55 cctgaaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgatgg cggcaccacc
180

gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
240

5 ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
300

ccctgggagt actcttggtg cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct
360

10 gctagc
366

<210> 212
<211> 366
15 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
20 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 212
25 caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcaactgggt tcgtcaagcc
120

30 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccxaa gcgggtggctc tacctcctac
180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240
35 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

actatcgttg tttctccgtt cgactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
40 360

gctagc
366

45 <210> 213
<211> 366
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

55 <400> 213
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

5 cccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccctaa gcggtggctc tacctcctac
180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

10 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcaactac
300

ttcatcggtt ctgttgctat ggactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac gggtttctct
360

15 gctagc
366

20 <210> 214
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

30 <400> 214
cagggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

35 cccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccctaa gcggtggctc tacctcctac
180

gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

40 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtctg
300

45 acttactcta tggactattg ggggtcaaggc accctcgtaa cgggtttcttc tgctagc
357

50 <210> 215
<211> 342
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 215

gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

5 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

10 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcact gcagattcca
300

15 aacacttttg gtcaaggcac caaggctcga attaaacgta cg
342

20 <210> 216
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

30 <400> 216
gaggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc
60

35 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

40 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatacgct
300

45 tacgctctgg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagc
354

50 <210> 217
<211> 327
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 217

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

5 ctctcttgca gggccagtca gagtggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca
180

10 gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagcatggca gcagcagcac gttcgggccag
300

15 gggaccsaaag tggaaatcaa acgtacg
327

20 <210> 218
<211> 366
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

30 <400> 218
caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

35 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccggggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccsaa gcggtggctc tacctcctac
180

40 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

45 ttctctgctg gtcgtctgat ggactattgg ggtcaaggca ccctcgtaac ggtttcttct
360

gctagc
366

50 <210> 219
<211> 345
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

полінуклеотид"

<400> 219
 5 gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
 60
 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
 120
 10 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
 180
 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
 240
 15 agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcact gcagacccca
 300
 ccaattacct ttggtcaagg caccaaggtc gaaattaaac gtacg
 20 345
 <210> 220
 <211> 357
 <212> ДНК
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 30 полінуклеотид"
 <400> 220
 caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 35 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcacg attaaccsaa gcggtggctc tacctcctac
 40 180
 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 45 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
 300
 tacaacgctt tcgactattg gggtcacggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagc
 357
 50
 <210> 221
 <211> 339
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 55
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

полінуклеотид"

<400> 221
 5 gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
 60
 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
 120
 10 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
 180
 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
 240
 15 agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcatg gcatagccca
 300
 acttttggtc aaggcaccaa ggtcgaaatt aaacgtacg
 20 339
 <210> 222
 <211> 357
 <212> ДНК
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 30 полінуклеотид"
 <400> 222
 35 caggtgcaat tggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 40 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccsaa gcggtggctc tacctcctac
 180
 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 45 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcgggtgct
 300
 acttacacta tggactattg ggggtcaaggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagc
 357
 50 <210> 223
 <211> 342
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

полінуклеотид"

<400> 223
 5 gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
 60
 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
 120
 10 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
 180
 tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
 240
 15 agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcact gcagacccca
 300
 attacttttg gtcaaggcac caaggtcgaa attaaacgta cg
 20 342
 <210> 224
 <211> 1344
 <212> ДНК
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 30 полінуклеотид"
 <400> 224
 caggtgcagc tgcagcagtc tggcgccgag ctctgaaac ctggcgccctc cgtgaagatc
 60
 35 agctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc ggctacttca tgaactgggt caagcagagc
 120
 cagggcaaga gcctggaatg gatcggcaga atccaccctc acgacggcga caccttctac
 40 180
 aaccagaact tcaaggacaa ggccaccctg accgtggaca agagcagcaa caccgcccac
 240
 45 atggaactgc tgagcctgac cagcgaggac ttgccctgtg actactgcac cagatacgac
 300
 ggcagccggg ccatggatta ttggggccag ggcaccaccg tgacagtgtc cagcgctagc
 360
 50 accaagggcc cctccgtgtt ccccctggcc ccagcagca agagcaccag cggcggcaca
 420
 gccgctctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtcttggaac
 55 480
 agcggagccc tgacctccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag ttctggcctg
 540

tatagcctga gcagcgtggt caccgtgcct tctagcagcc tgggcaccca gacctacatc
600

5 tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaggtgga gccaagagc
660

tgcgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagctgcagg gggaccgtca
720

10 gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc
780

15 acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg
840

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg
900

20 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac
960

aagtgcaagg tctccaacaa agccctcggc gcccctatcg agaaaacct ctccaaagcc
1020

25 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtgc accctgcccc catcccggga tgagctgacc
1080

30 aagaaccagg tcagcctctc gtgcgcagtc aaaggcttct atcccagcga catgcgcgtg
1140

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac
1200

35 tccgacggct ccttcttctt cgtgagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag
1320

40 agcctctccc tgtctccggg taaa
1344

<210> 225
45 <211> 2073
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
50 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 225
55 caggtgcagc tgcagcagtc tggcgccgag ctctgtaaac ctggcgccctc cgtgaagatc
60

agctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc ggctacttca tgaactgggt caagcagagc
 120
 5 caccgcaaga gcctggaatg gatcggcaga atccaccctt acgacggcga caccttctac
 180
 aaccagaact tcaaggacaa ggccaccctg accgtggaca agagcagcaa caccgcccac
 240
 10 atggaactgc tgagcctgac cagcaggagac ttcgccgtgt actactgcac cagatacgac
 300
 ggagccggg ccatggatta ttggggccag ggcaccaccg tgacagtgtc cagcgctagc
 360
 15 acaaagggcc ccagcgtgtt ccctctggcc cctagcagca agagcacatc tggcggaaca
 420
 gccgccctgg gctgcctcgt gaaggactac tttcccagac ctgtgaccgt gtcctggaac
 480
 20 tctggcgccc tgacaagcgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagag cagcggcctg
 540
 tactctctga gcagcgtggt caccgtgcct agcagcagcc tgggcaccca gacctacatc
 600
 tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaagtggaca agaaggtgga gccaagagc
 660
 30 tgtgatggcg gaggagggtc cggaggcgga gcatccgaag tgcagctggt ggaaagcggc
 720
 ggaggcctgg tgcagcctaa gggctctctg aagctgagct gtgccgccag cggcttcacc
 780
 35 ttcaacacct acgccatgaa ctgggtgcgc caggcccctg gcaaaggcct ggaatgggtg
 840
 gcccgatca gaagcaagta caacaattac gccacctact acgccgacag cgtgaaggac
 900
 cggttcacca tcagccggga cgacagccag agcatcctgt acctgcagat gaacaacctg
 960
 45 aaaaccgagg acaccgcat gtactactgc gtgcggcacg gcaacttcgg caacagctat
 1020
 gtgtcttggt ttgcctactg gggccagggc accctcgtga cagtgtctgc tgctagcgtg
 1080
 gccgctccct ccgtgtttat ctttccccc tccgatgaac agctgaaaag cggcaccgcc
 1140
 55 tccgtcgtgt gtctgctgaa caatttttac cctagggaag ctaaagtgca gtggaaagtg
 1200

gataacgcac tgcagtccgg caactcccag gaatctgtga cagaacagga ctccaaggac
1260

5 agcacctact ccctgtcctc caccctgaca ctgtctaagg ctgattatga gaaacacaaa
1320

gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac
1380

10 aggggagagt gtgacaagac ccacacctgt cccccttgtc ctgcccctga agctgctggc
1440

ggcccttctg tgttcctggt ccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc
1500

15 cccgaagtga cctgcgtggg ggtggatgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat
1560

20 tggtagctgg acggcgtgga agtgcacaac gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac
1620

aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc
1680

25 aaggagtaca agtgcaaggc ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc
1740

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgcccc atgccgggat
1800

30 gagctgacca agaaccaggc cagcctgtgg tgcttggtca aaggcttcta tcccagcgac
1860

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc
1920

35 gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg
1980

40 tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggtcttgca caaccactac
2040

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa
2073

45 <210> 226
<211> 654
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

55 <400> 226
gacatcgagc tgaccagag ccctgcctct ctggccgtgt ctctgggaca gagagccatc
60

atcagctgca aggccagcca gagcgtgtcc ttgcccggca cctctctgat gcactgggtat
120

5 caccagaagc ccggccagca gcccaagctg ctgatctaca gagccagcaa cctggaagcc
180

ggcgtgcccc caagattttc cggcagcggc agcaagaccg acttcaccct gaacatccac
240

10 cccgtggaag aagaggacgc cgccacctac tactgccagc agagcagaga gtacccctac
300

15 accttcggcg gaggcaccaa gctggaaatc aagcgtacgg tggctgcacc atctgtcttc
360

atcttcccg ccatctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg
420

20 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg
480

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc
540

25 agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc
600

30 acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt
654

<210> 227
<211> 209
<212> Білок
35 <213> Homo sapiens

<400> 227
Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala
1 5 10 15
40 Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln
20 25 30
45 Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln
35 40 45
Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His
50 55 60
50 Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr
65 70 75 80
Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val
85 90 95
55 Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys
100 105 110

	Glu	Asp	Cys	Glu	Gln	Trp	Trp	Glu	Asp	Cys	Arg	Thr	Ser	Tyr	Thr	Cys
			115					120					125			
5	Lys	Ser	Asn	Trp	His	Lys	Gly	Trp	Asn	Trp	Thr	Ser	Gly	Phe	Asn	Lys
		130					135					140				
	Cys	Ala	Val	Gly	Ala	Ala	Cys	Gln	Pro	Phe	His	Phe	Tyr	Phe	Pro	Thr
	145					150					155					160
10	Pro	Thr	Val	Leu	Cys	Asn	Glu	Ile	Trp	Thr	His	Ser	Tyr	Lys	Val	Ser
					165					170					175	
	Asn	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Met	Trp	Phe	Asp	Pro
15				180					185					190		
	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	Arg	Phe	Tyr	Ala	Ala	Ala
			195					200					205			
20	Met															
	<210>	228														
	<211>	214														
	<212>	Білок														
25	<213>	Homo sapiens														
	<400>	228														
30	Thr	Met	Cys	Ser	Ala	Gln	Asp	Arg	Thr	Asp	Leu	Leu	Asn	Val	Cys	Met
	1				5					10					15	
	Asp	Ala	Lys	His	His	Lys	Thr	Lys	Pro	Gly	Pro	Glu	Asp	Lys	Leu	His
				20					25					30		
35	Asp	Gln	Cys	Ser	Pro	Trp	Lys	Lys	Asn	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Ser	Thr
			35					40					45			
	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Lys	Asp	Thr	Ser	Arg	Leu	Tyr	Asn	Phe	Asn	Trp
		50					55					60				
40	Asp	His	Cys	Gly	Lys	Met	Glu	Pro	Ala	Cys	Lys	Arg	His	Phe	Ile	Gln
	65					70					75					80
	Asp	Thr	Cys	Leu	Tyr	Glu	Cys	Ser	Pro	Asn	Leu	Gly	Pro	Trp	Ile	Gln
45					85					90					95	
	Gln	Val	Asn	Gln	Ser	Trp	Arg	Lys	Glu	Arg	Phe	Leu	Asp	Val	Pro	Leu
				100					105					110		
50	Cys	Lys	Glu	Asp	Cys	Gln	Arg	Trp	Trp	Glu	Asp	Cys	His	Thr	Ser	His
			115					120					125			
	Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Trp	His	Arg	Gly	Trp	Asp	Trp	Thr	Ser	Gly	Val
		130					135					140				
55	Asn	Lys	Cys	Pro	Ala	Gly	Ala	Leu	Cys	Arg	Thr	Phe	Glu	Ser	Tyr	Phe
	145					150					155					160
	Pro	Thr	Pro	Ala	Ala	Leu	Cys	Glu	Gly	Leu	Trp	Ser	His	Ser	Tyr	Lys

				165					170					175			
	Val	Ser	Asn	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Met	Trp	Phe	
				180					185					190			
5	Asp	Ser	Ala	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	Arg	Phe	Tyr	Ala	
			195					200					205				
10	Ala	Ala	Met	His	Val	Asn											
			210														
	<210>	229															
	<211>	220															
	<212>	Білок															
15	<213>	Homo sapiens															
	<400>	229															
	Ser	Ala	Arg	Ala	Arg	Thr	Asp	Leu	Leu	Asn	Val	Cys	Met	Asn	Ala	Lys	
	1				5					10					15		
20	His	His	Lys	Thr	Gln	Pro	Ser	Pro	Glu	Asp	Glu	Leu	Tyr	Gly	Gln	Cys	
				20					25					30			
25	Ser	Pro	Trp	Lys	Lys	Asn	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Ser	Thr	Ser	Gln	Glu	
			35					40					45				
	Leu	His	Lys	Asp	Thr	Ser	Arg	Leu	Tyr	Asn	Phe	Asn	Trp	Asp	His	Cys	
		50					55					60					
30	Gly	Lys	Met	Glu	Pro	Thr	Cys	Lys	Arg	His	Phe	Ile	Gln	Asp	Ser	Cys	
	65					70					75					80	
	Leu	Tyr	Glu	Cys	Ser	Pro	Asn	Leu	Gly	Pro	Trp	Ile	Arg	Gln	Val	Asn	
					85					90					95		
35	Gln	Ser	Trp	Arg	Lys	Glu	Arg	Ile	Leu	Asn	Val	Pro	Leu	Cys	Lys	Glu	
				100					105					110			
40	Asp	Cys	Glu	Arg	Trp	Trp	Glu	Asp	Cys	Arg	Thr	Ser	Tyr	Thr	Cys	Lys	
			115					120					125				
	Ser	Asn	Trp	His	Lys	Gly	Trp	Asn	Trp	Thr	Ser	Gly	Ile	Asn	Glu	Cys	
		130					135					140					
45	Pro	Ala	Gly	Ala	Leu	Cys	Ser	Thr	Phe	Glu	Ser	Tyr	Phe	Pro	Thr	Pro	
	145					150					155					160	
	Ala	Ala	Leu	Cys	Glu	Gly	Leu	Trp	Ser	His	Ser	Phe	Lys	Val	Ser	Asn	
				165						170					175		
50	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ser	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Met	Trp	Phe	Asp	Ser	Ala	
				180					185					190			
55	Gln	Gly	Asn	Pro	Asn	Glu	Glu	Val	Ala	Lys	Phe	Tyr	Ala	Ala	Ala	Met	
			195					200					205				
	Asn	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Arg	Gly	Ile	Ile	Asp	Ser					
		210					215					220					

<210> 230
 <211> 208
 <212> Білок
 5 <213> Mus musculus

 <400> 230
 Thr Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val Cys Met Asp Ala Lys His
 1 5 10 15
 10 His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Asn Leu His Asp Gln Cys Ser
 20 25 30
 15 Pro Trp Lys Thr Asn Ser Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala
 35 40 45
 His Lys Asp Ile Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly
 50 55 60
 20 Thr Met Thr Ser Glu Cys Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu
 65 70 75 80
 Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln
 85 90 95
 25 Ser Trp Arg Lys Glu Arg Ile Leu Asp Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp
 100 105 110
 Cys Gln Gln Trp Trp Glu Asp Cys Gln Ser Ser Phe Thr Cys Lys Ser
 115 120 125
 30 Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Ser Ser Gly His Asn Glu Cys Pro
 130 135 140
 35 Val Gly Ala Ser Cys His Pro Phe Thr Phe Tyr Phe Pro Thr Ser Ala
 145 150 155 160
 Ala Leu Cys Glu Glu Ile Trp Ser His Ser Tyr Lys Leu Ser Asn Tyr
 165 170 175
 40 Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln
 180 185 190
 Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr Ala Glu Ala Met Ser
 195 200 205
 45
 <210> 231
 <211> 213
 <212> Білок
 50 <213> Macaca fascicularis

 <400> 231
 Glu Ala Gln Thr Arg Thr Ala Arg Ala Arg Thr Glu Leu Leu Asn Val
 1 5 10 15
 55 Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly Pro Glu Asp Lys
 20 25 30

Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Lys Lys Asn Ala Cys Cys Ser Thr
 35 40 45
 5 Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr Leu Tyr Arg Phe
 50 55 60
 Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys Lys Arg His Phe
 65 70 75 80
 10 Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn Leu Gly Pro Trp
 85 90 95
 Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg Val Leu Asn Val
 100 105 110
 15 Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Arg Trp Trp Glu Asp Cys Arg Thr
 115 120 125
 Ser Tyr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp Asn Trp Thr Ser Gly
 130 135 140
 Phe Asn Lys Cys Pro Val Gly Ala Ala Cys Gln Pro Phe His Phe Tyr
 145 150 155 160
 25 Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile Trp Thr Tyr Ser Tyr
 165 170 175
 Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg Cys Ile Gln Met Trp
 180 185 190
 30 Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu Val Ala Arg Phe Tyr
 195 200 205
 Ala Ala Ala Met Ser
 35 210
 <210> 232
 <211> 9
 <212> Білок
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 45 пептид"
 <400> 232
 Pro Trp Glu Tyr Ser Trp Tyr Asp Tyr
 1 5
 50 <210> 233
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

пептид"

5 <400> 233
 Asn Tyr Thr Ile Val Val Ser Pro Phe Asp Tyr
 1 5 10

 10 <210> 234
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 15 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

 20 <400> 234
 Asn Tyr Phe Ile Gly Ser Val Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

 25 <210> 235
 <211> 8
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 30 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

 35 <400> 235
 Gly Leu Thr Tyr Ser Met Asp Tyr
 1 5

 40 <210> 236
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 45 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

 50 <400> 236
 Met Gln Ala Leu Gln Ile Pro Asn Thr
 1 5

 55 <210> 237
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"

<400> 237
 Tyr Ala Tyr Ala Leu Asp Tyr
 1 5

5 <210> 238
 <211> 8
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

15 <400> 238
 Gln Gln His Gly Ser Ser Ser Thr
 1 5

20 <210> 239
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

30 <400> 239
 Gly Asp Phe Ser Ala Gly Arg Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

35 <210> 240
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

40 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

45 <400> 240
 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

50 <210> 241
 <211> 8
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

<400> 241
 Gly Asp Tyr Asn Ala Phe Asp Tyr

```

1          5

<210> 242
<211> 8
5 <212> Білок
   <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
10 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
    пептид"

<400> 242
Met Gln Ala Trp His Ser Pro Thr
15 1          5

<210> 243
<211> 8
<212> Білок
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
25 пептид"

<400> 243
Gly Ala Thr Tyr Thr Met Asp Tyr
30 1          5

<210> 244
<211> 9
<212> Білок
<213> Штучна послідовність
35

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
40 пептид"

<400> 244
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Ile Thr
1          5

45 <210> 245
    <211> 227
    <212> Білок
    <213> Штучна послідовність

50 <220>
    <221> джерело
    <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        поліпептид"

55 <400> 245
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1          5          10          15

```

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

5 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

10 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

15 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

30 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

35 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

40 Pro Gly Lys
225

<210> 246
<211> 2076
45 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 246
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cggttaaagtg
55 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccggggccagg gtctggaatg gatggggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

5 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc
300

10 ttacttggtt tccatctgga ctattgggggt caaggcacc cgtaacggt ttcttctgct
360

agcacaaagg gccccagcgt gttccctctg gccctagca gcaagagcac atctggcgga
15 420

acagccgccc tgggctgcct cgtgaaggac tactttcccg agcctgtgac cgtgtcctgg
480

20 aactctggcg ccctgacaag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
540

ctgtactctc tgagcagcgt ggtcacctg cctagcagca gcctgggcac ccagacctac
600

25 atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaaagtgg acaagaagg ggagcccaag
660

agctgtgatg gcggaggagg gtccggaggc ggaggatccg aggtgcagct gctggaatct
30 720

ggcggcggac tgggtgcagcc tggcggatct ctgagactga gctgtgccgc cagcggcttc
780

35 accttcagca cctacgccat gaactgggtg cgccaggccc ctggcaaagg cctggaatgg
840

gtgtcccga tcagaagcaa gtacaacaac tacgccacct actacgccga cagcgtgaag
900

40 ggccggttca ccatcagccg ggacgacagc aagaacacc tgtacctgca gatgaacagc
960

ctgcggggccg aggacaccgc cgtgtactat tgtgtgcggc acggcaactt cggcaacagc
45 1020

tatgtgtctt ggtttgccta ctggggccag ggcaccctcg tgaccgtgtc aagcgctagt
1080

50 gtggccgctc cctccgtgtt tatctttccc ccatccgatg aacagctgaa aagcggcacc
1140

gcctccgtcg tgtgtctgct gaacaatttt taccctaggg aagctaaagt gcagtggaaa
1200

55 gtggataacg cactgcagtc cggcaactcc caggaatctg tgacagaaca ggactccaag
1260

gacagcacct actccctgtc ctccaccctg acactgtcta aggctgatta tgagaaacac
1320

5 aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag ggcttgagct cgcccgtcac aaagagcttc
1380

aacaggggag agtgtgacaa gaccacaccc tgtccccctt gtcctgcccc tgaagctgct
1440

10 ggcgggccctt ctgtgttcct gttcccccca aagcccaagg acaccctgat gatcagccgg
1500

acccccgaag tgacctgcgt ggtggtggat gtgtcccacg aggaccctga agtgaagttc
1560

15 aattggtacg tggacggcgt ggaagtgcac aacgcccaaga caaagccgcg ggaggagcag
1620

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat
20 1680

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcg gcgcccccat cgagaaaacc
1740

25 atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg
1800

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tggtgccctgg tcaaaggctt ctatcccagc
1860

30 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct
1920

cccgtgctgg actccgacgg ctcccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc
35 1980

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac
2040

40 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa
2076

<210> 247
<211> 1347
45 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 247
caggtgcaat tggttcaatc tggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
55 60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

5 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccatgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgctctttc
300

10 ttacttggtt tccatctgga ctattgggggt caaggcaccg tcgtaacggt ttcttctgct
360

agcaccaagg gcccctccgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc
15 420

acagccgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg
480

20 aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagttctggc
540

ctgtatagcc tgagcagcgt ggtcacctg ccttctagca gcctgggcac ccagacctac
600

25 atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaagggtg acaagaagggt ggagcccaag
660

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
30 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccc gacccttag
780

35 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
900

40 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
45 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccc ggatgagctg
1080

50 accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
1200

55 gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
1320

5 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
1347

<210> 248

<211> 120

<212> Білок

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

15 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 248

20 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

25 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 Glu Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
50 55 60

30 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

35 Tyr Cys Thr Thr Pro Trp Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

40 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 249

<211> 120

<212> Білок

45 <213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 249

55 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

5 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Gln 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

10 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

15 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 250
20 <211> 125
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
25 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 250
30 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

35 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

45 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 Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

50 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 251
55 <211> 125
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

5

<400> 251
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

10 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

15

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

20 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

25 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ala Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

30

<210> 252
 <211> 689
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

35

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

40

<400> 252
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

45 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

50

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60

55 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			
5	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					
10	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	
15					165					170					175		
	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
				180					185					190			
20	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	
25		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	
30					245					250					255		
	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	
				260					265					270			
35	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					
40	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	
45					325					330					335		
	Asn	Phe	Gly	Ala	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
				340					345					350			
50	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					
55	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		
5	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				
10	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	
15	465					470					475					480	
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
					485					490					495		
20	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				
25	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	
30	545					550					555					560	
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
					565					570					575		
35	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				
40	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	
45	625					630					635					640	
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
					645					650					655		
50	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				
55	Lys																

<210> 253

<211> 450
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

10 <400> 253
 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
 15 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 20 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
 25 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
 35 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
 40 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
 45 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 50 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
 55 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

5 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

10 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

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

20 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

25 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

30 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

35 Gly Lys
450

40 <210> 254
<211> 215
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

50 <400> 254
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

55 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
 5 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
 10 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
 20 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
 25 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
 35 <210> 255
 <211> 689
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 45 <400> 255
 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
 55 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

UA 122676 C2

	65				70					75					80	
	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85						90					95	
5	Tyr	Cys	Thr	Thr	Pro	Trp	Glu	Trp	Ser	Trp	Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105						110		
10	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				
15	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	
20	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
25			195					200					205			
	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
		210					215					220				
30	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	
35	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg
			260						265					270		
40	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				
45	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	
50	Asn	Phe	Gly	Asn	Ala	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
55			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	
5	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			
10	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	
15		450					455					460					
	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	
	465					470					475					480	
20	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			
25	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	
30		530					535					540					
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
	545					550				555						560	
35	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			
40	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	
45		610					615					620					
	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
	625					630					635					640	
50	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			
55	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
			675					680						685			

Lys

5 <210> 256
 <211> 690
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

15 <400> 256
 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 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 Pro Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 25 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 30 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Asp Phe Ala Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 35 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 40 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 45 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 50 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly
 55 210 215 220
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly
 225 230 235 240

	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	
					245					250					255		
5	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	
				260					265					270			
	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	
			275					280					285				
10	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	
		290					295					300					
	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	
15	305					310					315					320	
	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	
				325						330					335		
20	Ala	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
				340					345					350			
	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	
			355					360					365				
25	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	
		370					375					380					
	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	
30	385					390					395					400	
	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	
				405						410					415		
35	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	
				420					425					430			
	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	
			435					440					445				
40	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Asp	
		450					455					460					
	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	
45	465					470					475					480	
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				485						490					495		
50	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
				500					505					510			
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
			515					520					525				
55	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
		530					535					540					

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
545 550 555 560

5 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
565 570 575

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
580 585 590

10 Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
595 600 605

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
610 615 620

15 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
625 630 635 640

20 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
645 650 655

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
660 665 670

25 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
675 680 685

Gly Lys
690

30 <210> 257
<211> 447
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

40 <400> 257
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

45 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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

	Ala	Arg	Gly	Asp	Phe	Ala	Trp	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
				100					105					110			
5	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
			115					120					125				
	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
		130					135					140					
10	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	145					150					155					160	
	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
15					165					170					175		
	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
				180					185					190			
20	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
			195					200					205				
	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
		210					215					220					
25	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
	225					230					235					240	
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
30					245					250					255		
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
				260					265					270			
35	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
			275					280					285				
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
		290					295					300					
40	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
	305					310					315					320	
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
45					325					330					335		
	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	
				340					345					350			
50	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	
			355					360					365				
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
		370					375					380					
55	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
	385					390					395					400	

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

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

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

10 <210> 258
<211> 219
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

20 <400> 258
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

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

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

30 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

40 Ser Ile Met Gln Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

45 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

50 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

55 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

5 <210> 259
<211> 214
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

15 <400> 259
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

20 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

25 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

30 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

35 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

40 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

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

50 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

55 Val Glu Pro Lys Ser Cys
210

<210> 260

<211> 690
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

10 <400> 260
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

20 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Pro Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

50 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly
 210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly
 225 230 235 240

55 Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 245 250 255

	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	
				260					265					270			
5	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	
			275					280					285				
	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	
		290					295					300					
10	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	
	305					310					315					320	
	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	
					325					330					335		
15	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
				340					345					350			
	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	
20			355					360					365				
	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	
		370					375					380					
25	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	
	385					390					395					400	
	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	
				405					410					415			
30	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	
				420					425					430			
	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	
35			435					440					445				
	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Asp	
		450					455					460					
40	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	
	465					470					475					480	
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				485					490					495			
45	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
				500				505						510			
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
50			515				520					525					
	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
		530					535					540					
55	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
	545					550					555					560	
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	

	565	570	575
	Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
	580	585	590
5	Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
	595	600	605
10	Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
	610	615	620
	Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
	625	630	635
15	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
	645	650	655
	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
	660	665	670
20	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
	675	680	685
25	Gly Lys		
	690		
	<210> 261		
	<211> 360		
	<212> ДНК		
30	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<221> джерело		
35	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"		
	<400> 261		
	gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg		
	60		
40	agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc		
	120		
	ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgaggg tggcaccacg		
45	180		
	gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact		
	240		
50	ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc		
	300		
	ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc		
	360		
55	<210> 262		
	<211> 360		
	<212> ДНК		

```

<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
    полінуклеотид"

<400> 262
10 gaggtgcaat tggttgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcgggtc cctgcgtctg
    60

    agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
    120

15 ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactcaggg tggcaccacg
    180

    gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
    240
20 ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
    300

    ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg gccaggga cgctgggttac ggtgtcttcc
25 360

<210> 263
<211> 375
<212> ДНК
30 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
35 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
    полінуклеотид"

<400> 263
    gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
40 60

    agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
    120

    cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccgg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
45 180

    tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
    240

50 ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggaaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
    300

    cacggcaact tcggcgccag ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc
55 360

    gtgaccgtgt caagc
    375

```

<210> 264
 <211> 375
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"
 10
 <400> 264
 gaggtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg
 60
 15 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc
 120
 cctggcaaag gcctggaatg ggtgtcccg atcagaagca agtacaacaa ctacgccacc
 180
 20 tactacgccg acagcgtgaa gggccgggtc accatcagcc gggacgacag caagaacacc
 240
 ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtacta ttgtgtgcgg
 25 300
 cacggcaact tcggcaacgc ctatgtgtct tggtttgcct actggggcca gggcaccctc
 360
 30 gtgaccgtgt caagc
 375
 <210> 265
 <211> 2067
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"
 40
 <400> 265
 gaggtgcaat tggttgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcgggtc cctgcgtctg
 45 60
 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
 120
 50 ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
 180
 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
 240
 55 ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
 300

ccgtgggaat ggtcttggtta cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

5 gctagcaciaa agggccctag cgtgttccct ctggcccca gcagcaagag cacaagcggc
420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct
480

10 tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc
540

ggcctgtact ccctgagcag cgtgggtcacc gtgcctagca gcagcctggg caccagacc
600

15 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc
660

20 aagagctgtg atggcggagg agggtcgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa
720

tctggcgcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc
780

25 ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa
840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactaccca cctactacgc cgacagcgtg
900

30 aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac
960

35 agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcgcc
1020

agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcacc tcgtgaccgt gtcaagcgt
1080

40 agtaccaagg gcccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg
1200

45 aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcacctg ccctctagct ccctgggaac acagacatat
1320

50 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
1380

55 agctgcgaca aaactcacac atgccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
1440

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccttgag
1500

5 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
1560

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1620

10 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1740

15 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
1800

20 accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtagctg
1920

25 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
2040

30 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
2067

35 <210> 266
<211> 1350
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 266
gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaaac cgggcggttc cctgcgtctg
60

50 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

55 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

5 gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggcccca gcagcaagag caccagcggc
420

ggcacagccg ctctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc
480

10 tggaaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct
540

ggcctgtata gcctgagcag cgtgggtcacc gtgccttcta gcagcctggg caccagacc
600

15 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc
660

aagagctgcy acaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga
720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacacc tcctgatctc ccggaccct
780

25 gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
900

30 agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag
960

35 gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc
1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcacc tgccccatc ccgggatgag
1080

40 ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1200

45 ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccgcttcacg
1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
1350

55 <210> 267
<211> 645
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 267

10 cagggcgtcg tgacccagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
60

acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa
120

15 aagcccggcc aggccttcag aggactgac gccggcacca acaagagagc ccctggcacc
180

cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaaggccg ccctgacact gtctggcgcc
240

20 cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc
300

25 ggcgaggca ccaagctgac agtcctaggt caacccaagg ctgccccag cgtgaccctg
360

ttcccccca gcagcgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatcagc
420

30 gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc
480

ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac
540

35 ctgagcctga ccccgagca gtggaagagc cacaggtcct acagctgcca ggtgaccac
600

gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagc
40 645

<210> 268

<211> 2067

<212> ДНК

45 <213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 268

gaggtgcaat tgggtgaatc tgggtggtggt ctggtaaac cgggcggttc cctgcgtctg
60

55 agctgcgcgg cttccggatt caccttctcc aacgcgtgga tgagctgggt tcgccaggcc
120

ccgggcaaag gcctcgagtg ggttggtcgt atcaagtcta aaactgacgg tggcaccacg
180

5 gattacgcgg ctccagttaa aggtcgtttt accatttccc gcgacgatag caaaaacact
240

ctgtatctgc agatgaactc tctgaaaact gaagacaccg cagtctacta ctgtactacc
300

10 ccgtgggaat ggtcttggtg cgattattgg ggccagggca cgctgggttac ggtgtcttcc
360

gctagcacia agggccctag cgtgttccct ctggcccca gcagcaagag cacaagcggc
420

15 ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgtct
480

20 tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacactttcc ctgccgtgct gcagagcagc
540

ggcctgtact ccctgagcag cgtggtcacc gtgcctagca gcagcctggg caccagacc
600

25 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc
660

aagagctgtg atggcggagg agggtcgga ggaggaggat ccgaggtgca gctgctggaa
720

30 tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc
780

35 ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa
840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg
900

40 aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac
960

agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac
1020

45 gcctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcacc cgtgaccgt gtcaagcgt
1080

agtaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
1140

50 acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcttgg
1200

55 aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcaccgtg ccctctagct ccctgggaac acagacatat
1320

5 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
1380

agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
1440

10 tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag
1500

gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
1560

15 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1620

20 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1740

25 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
1800

accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1860

30 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtagctg
1920

35 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
2040

40 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
2067

<210> 269
<211> 2070

45 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело

50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 269

55 caggtgcaat tgggtcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccggggccagg gtctggaatg gatggggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac
180

5 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

10 ttcgcttggc tggactattg gggtaagggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcaca
360

aagggcccca gcgtgttccc tctggcccct agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc
15 420

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct
480

20 ggcgccctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac
540

tctctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc
600

25 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaaa gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt
660

gatggcggag gaggggtccg aggcggagga tccgaggtgc agctgctgga atctggcggc
30 720

ggactggtgc agcctggcgg atctctgaga ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc
780

35 agcacctacg ccatgaactg ggtgcgccag gccctggca aaggcctgga atgggtgtcc
840

cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg
900

40 ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg
960

gccgaggaca ccgccgtgta ctattgtgtg cggcacggca acttcggcgc cagctatgtg
1020

tcttggtttg cctactgggg ccagggcacc ctctgaccg tgtcaagcgc tagtgtggcc
1080

50 gctccctccg tgtttatctt tccccatcc gatgaacagc tgaaaagcgg caccgcctcc
1140

gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttttaccct agggaagcta aagtgcagtg gaaagtggat
1200

55 aacgcactgc agtccggcaa ctcccaggaa tctgtgacag aacaggactc caaggacagc
1260

acctactccc tgtcctccac cctgacactg tctaaggctg attatgagaa acacaaagtc
1320

5 tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg
1380

ggagagtgtg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccctgaagc tgctggcggc
1440

10 ccttctgtgt tcctgttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc
1500

gaagtgcctt gcgtgggtgt ggatgtgtcc cacgaggacc ctgaagtga gttcaattgg
1560

15 tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
1620

agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag
20 1680

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc
1740

25 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag
1800

ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1860

30 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1920

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
35 1980

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
2040

40 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
2070

<210> 270
<211> 1341

45 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело

50 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 270

55 caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120

ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggccc tacctcctac
180

5 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

10 ttcgcttggc tggactattg gggtaagggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcacc
360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc
15 420

gctctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc
480

20 ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat
540

agcctgagca gcgtgggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc
600

25 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc
660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccc a gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc
30 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
780

35 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
900

40 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
45 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
1080

50 aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
1200

55 gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1320

5 ctctccctgt ctccgggtaa a
1341

<210> 271
<211> 657
<212> ДНК
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
15 полінуклеотид"

<400> 271
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60
20 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

25 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

30 agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcaag cattatgcag
300

cggacttttg gtcaaggcac caaggctgaa attaaacgta cggtggtgctc accatctgtc
360
35 ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg
420

40 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa
480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc
540

45 agcagcacc ctgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
600

gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt
657
50 <210> 272
<211> 642
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
55 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний

полінуклеотид"

<400> 272
 5 cagggcgtcg tgaccsagga acccagcctg acagtgtctc ctggcggcac cgtgaccctg
 60
 acatgtggca gttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggaa
 120
 10 aagcccggcc aggccttcag aggactgatc ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc
 180
 cctgccagat tcagcggatc tctgctggga ggaaggccg ccctgacact gtctggcgcc
 240
 15 cagccagaag atgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacct gtgggtgttc
 300
 ggcgaggca ccaagctgac agtgctgagc agcgcttcca ccaaaggccc ttccgtgttt
 20 360
 cctctggctc ctagctccaa gtccacctct ggaggaccg ctgctctcgg atgcctcgtg
 420
 25 aaggattatt ttcctgagcc tgtgacagtg tcctggaata gcggagcact gacctctgga
 480
 gtgcatactt tccccgctgt gctgcagtcc tctggactgt acagcctgag cagcgtgggtg
 540
 30 acagtgcccc gcagcagcct gggcaccag acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc
 600
 agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa cccaagtctt gt
 35 642
 <210> 273
 <211> 2070
 <212> ДНК
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 45 полінуклеотид"
 <400> 273
 caggtgcaat tggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 50 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaaccxaa gcgggtggccc tacctcctac
 55 180
 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240

atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

5 ttcgcttggc tggactattg gggtaagggc accctcgtaa cggtttcttc tgctagcaca
360

aagggcccca gcgtgttccc tctggcccct agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc
420

10 gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct
480

15 ggcgccctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac
540

tctctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc
600

20 aacgtgaacc acaagcccag caacacccaa gtggacaaga aggtggagcc caagagctgt
660

gatggcggag gaggggtccg aggcggagga tccgaggtgc agctgctgga atctggcggc
720

25 ggactgggtgc agcctggcgg atctctgaga ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc
780

30 agcacctacg ccatgaactg ggtgcgccag gccctggca aaggcctgga atgggtgtcc
840

cggatcagaa gcaagtacaa caactacgcc acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg
900

35 ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg
960

gccgaggaca ccgccgtgta ctattgtgtg cggcacggca acttcggcaa cgcctatgtg
1020

40 tcttggtttg cctactgggg ccagggcacc ctctgtaccg tgtcaagcgc tagtgtggcc
1080

45 gtcacctccg tgtttatctt tccccatcc gatgaacagc tgaaaagcgg caccgcctcc
1140

gtcgtgtgtc tgctgaacaa tttttaccct aggaagcta aagtgcagtg gaaagtggat
1200

50 aacgcactgc agtccggcaa ctcccaggaa tctgtgacag aacaggactc caaggacagc
1260

acctactccc tgtcctccac cctgacactg tctaaggctg attatgagaa acacaaagtc
1320

55 tacgcctgcg aagtcacca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg
1380

ggagagtgtg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccctgaagc tgctggcggc
 1440
 5 ccttctgtgt tcctgttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc
 1500
 gaagtgacct gcgtgggtgt ggatgtgtcc cacgaggacc ctgaagtga gttcaattgg
 1560
 10 tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
 1620
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag
 1680
 15 gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc
 1740
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag
 20 1800
 ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
 1860
 25 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
 1920
 ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
 1980
 30 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
 2040
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
 35 2070
 <210> 274
 <211> 120
 <212> Білок
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 45 поліпептид"
 <400> 274
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 50 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
 55 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Glu 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

5 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Pro Tyr Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

10 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 275
15 <211> 19
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
20 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 275
25 Arg Ile Lys Ser Lys Thr Glu Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
1 5 10 15

Val Lys Gly

30 <210> 276
<211> 689
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

40 <400> 276
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

45 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

50 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Glu 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
55 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	Tyr	Glu	Trp	Ser	Trp	Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	
				100					105					110			
5	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					
10	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	
15					165					170					175		
	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
				180					185					190			
20	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	
25		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	
30					245					250					255		
	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	
				260					265					270			
35	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					
40	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	
45					325					330					335		
	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
				340					345					350			
50	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					
55	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		
5	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				
10	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	
15	465					470					475					480	
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
					485					490					495		
20	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				
25	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	
30	545					550					555					560	
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
					565					570					575		
35	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				
40	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	
45	625					630					635					640	
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
					645					650					655		
50	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				
55	Lys																

<210> 277

<211> 450
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

10 <400> 277
 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
 15 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 Glu 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
 25 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr Pro Tyr 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
 35 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
 40 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
 45 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 50 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
 55 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

5 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

10 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

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

20 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

25 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

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

35 Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

40 <210> 278
<211> 119
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

50 <400> 278
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

10 Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Tyr Arg Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15

<210> 279
<211> 109
<212> Білок
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
25 поліпептид"

<400> 279
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

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

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

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

40 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Glu Ser Pro Pro Thr Gly
85 90 95

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

<210> 280
50 <211> 674
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
55 <221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<400> 280
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 15 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 20 Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Tyr Arg 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
 25 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 30 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
 35 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
 40 Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
 210 215 220
 45 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
 50 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
 55 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	
5	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			
10	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					
15	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	
20					405					410					415		
	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
				420					425				430				
25	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					
30	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	
35					485					490					495		
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
				500					505					510			
40	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					
45	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	
50					565					570					575		
	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
				580					585					590			
55	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
5	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His					
		645		650		655
10	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro					
		660		665		670
	Gly Lys					
15	<210> 281					
	<211> 449					
	<212> Білок					
	<213> Штучна послідовність					
20	<220>					
	<221> джерело					
	<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний					
	поліпептид"					
25	<400> 281					
	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly					
	1	5		10		15
30	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr					
		20		25		30
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
		35		40		45
35	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val					
		50		55		60
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr					
		65		70		75
40	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
			85		90	95
	Ala Arg Gly Asp Tyr Arg Tyr Arg Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly					
45		100		105		110
	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe					
		115		120		125
50	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
55	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			
5	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					
10	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		
15	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	
20			275					280					285				
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
		290					295					300					
25	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		
30	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	
35			355					360					365				
	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
		370					375					380					
40	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		
45	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	
50			435					440					445				
	Lys																
55	<210>	282															
	<211>	215															
	<212>	Білок															
	<213>	Штучна послідовність															

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 5 поліпептид"

 <400> 282
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 10 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 15 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 20 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Glu Ser Pro Pro Thr Gly
 85 90 95
 25 Leu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
 100 105 110
 30 Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Lys Lys Leu
 115 120 125
 Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 130 135 140
 35 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
 40 Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 180 185 190
 45 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
 50 <210> 283
 <211> 118
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

<400> 283
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 10 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
 15 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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
 20 Ala Arg Gly Asp Trp Ser Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 25
 <210> 284
 <211> 111
 <212> Білок
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 35 поліпептид"
 <400> 284
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 40 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 55 Arg Gln Thr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 285
 <211> 673
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

10

<400> 285
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

20

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

25 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg 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

30 Ala Arg Gly Asp Trp Ser Tyr Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

35

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

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

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

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

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

50

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

55 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro
 225 230 235 240

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
 245 250 255

	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Glu	
				260					265					270			
5	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Phe	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	
			275					280					285				
	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	
		290					295					300					
10	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	
	305					310					315					320	
	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	
15					325					330					335		
	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
				340					345					350			
20	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
			355					360					365				
	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
25		370					375					380					
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
	385					390					395					400	
	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
30					405					410					415		
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
				420					425					430			
35	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
			435					440					445				
	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	
40		450					455					460					
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
	465					470					475					480	
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
45					485					490					495		
	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
				500					505					510			
50	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
			515				520						525				
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
		530					535					540					
55	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
	545					550					555					560	

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
565 570 575

5 Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
580 585 590

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
595 600 605

10 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
610 615 620

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
625 630 635 640

15 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
645 650 655

20 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
660 665 670

Lys

25 <210> 286
<211> 448
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

35 <400> 286
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

40 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

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 Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

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

	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
	130						135					140					
5	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
	145					150					155					160	
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
					165					170					175		
10	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
15			195					200					205				
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
	210						215					220					
20	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	
	225					230					235					240	
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
					245					250					255		
25	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
				260					265					270			
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
30			275					280					285				
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
	290						295					300					
35	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
	305					310					315					320	
	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
					325					330					335		
40	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	
				340					345					350			
	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	
45			355					360					365				
	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
	370						375					380					
50	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
	385					390					395					400	
	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
					405					410					415		
55	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
				420					425					430			

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

- 5 <210> 287
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
- 10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
- 15 <400> 287
gaggtgcaat tgggtgaaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg
60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
120
20 cctggaaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgaggg cggcaccacc
180
25 gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
240
ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
300
30 ccctacgagt ggtcttggtg cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct
360
- 35 <210> 288
<211> 2067
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
- 40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
- 45 <400> 288
gaggtgcaat tgggtgaaaag cggaggcggc ctcgtgaagc ctggcggatc tctgagactg
60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
120
50 cctggaaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgaggg cggcaccacc
180
gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
240
55 ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
300

ccctacgagt ggtcttggtgta cgactactgg gccaggga ccctcgtgac cgtgtcatct
360

5 gctagcacia agggccctag cgtgttccct ctggcccca gcagcaagag cacaagcggc
420

ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactacttcc ccgagcccg gacagtgtct
480

10 tggaacagcg gagccctgac aagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagagcagc
540

ggcctgtact ccctgagcag cgtgggtcacc gtgcctagca gcagcctggg caccagacc
600

15 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaaag tggacaagaa ggtggagccc
660

20 aagagctgtg atggcggagg aggggtccgga ggcggaggat ccgaggtgca gctgctggaa
720

tctggcggcg gactggtgca gcctggcgga tctctgagac tgagctgtgc cgccagcggc
780

25 ttcaccttca gcacctacgc catgaactgg gtgcgccagg cccctggcaa aggcctggaa
840

tgggtgtccc ggatcagaag caagtacaac aactaccca cctactacgc cgacagcgtg
900

30 aagggccggt tcaccatcag ccgggacgac agcaagaaca ccctgtacct gcagatgaac
960

35 agcctgcggg ccgaggacac cgccgtgtac tattgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac
1020

agctatgtgt cttggtttgc ctactggggc cagggcacc tcgtgaccgt gtcaagcgt
1080

40 agtaccaagg gcccagcgt gttccccctg gcaccagca gcaagagcac atctggcgga
1140

acagccgctc tgggctgtct ggtgaaagac tacttccccg agcccgtag cgtgtcttgg
1200

45 aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gagcagcggc
1260

ctgtactccc tgtcctccgt ggtcacctg ccctctagct ccctgggaac acagacatat
1320

50 atctgtaatg tcaatcacia gccttccaac accaaagtcg ataagaaagt cgagcccaag
1380

55 agctgcgaca aaactcacac atgccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
1440

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccttgag
1500

5 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
1560

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
1620

10 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
1680

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1740

15 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatgccg ggatgagctg
1800

20 accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
1860

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtagctg
1920

25 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
1980

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
2040

30 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
2067

35 <210> 289
<211> 1350
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 289
gaggtgcaat tgggtgaaag cggaggcggc ctctgaagc ctggcggatc tctgagactg
60

50 agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aacgcctgga tgagctgggt gcgccaggcc
120

cctggaaaag gactcgagtg ggtgggacgg atcaagagca agaccgaggg cggcaccacc
180

55 gactatgccg cccctgtgaa gggccgggtc accatcagca gggacgacag caagaacacc
240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcaccacc
300

ccctacgagt ggtcttggtg cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct
360

5 gctagcacca agggcccctc cgtgttcccc ctggcccca gcagcaagag caccagcggc
420

ggcacagccg ctctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc
480

10 tggaaacagcg gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct
540

ggcctgtata gcctgagcag cgtgggtcacc gtgccttcta gcagcctggg caccagacc
15 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc
660

20 aagagctgcy acaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag cacctgaagc tgcaggggga
720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacacc tcattgatct ccggacccct
780

25 gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
30 900

agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag
960

35 gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc ctcggcgccc ccatcgagaa aaccatctcc
1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtgcacc tgccccatc ccgggatgag
1080

40 ctgaccaaga accaggtcag cctctcgtgc gcagtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
45 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1260

50 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccgcttcacg
1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
1350

55 <210> 290
<211> 357
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 290

10 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

15 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

20 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcgtgggtgac
300

taccgttacc gttacttcga ctactggggc caaggaaccs ttggtcaccgt ctcgagt
25 357

<210> 291

<211> 327

<212> ДНК

30 <213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

35 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 291

40 tcttctgaac tgactcaaga tccagctggt agcgtggctc tgggtcagac tgtacgtatc
60

acctgccaaag gcgattctct gcgctcctac tacgcaagct ggtaccagca gaaaccgggt
120

caggccccag ttctggtgat ttacggcaaa aacaaccgtc cgtctgggat cccggaccgt
45 180

ttctccggca gctcttccgg taacacggcg agcctcacca tcaactggcg tcaagcagaa
240

50 gacgaggccg actattactg taactctcgg gaaagcccac caaccggcct ggttgtcttc
300

ggtggcggtg ccaagctgac cgtccta
327

55 <210> 292

<211> 2022

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 292

10 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

15 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

20 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcgtgggtgac
300

25 taccgttacc gttacttcga ctactggggc caaggaaccc tggtcaccgt ctcgagtgtc
360

agcaccaagg gccctccgt gtttccctctg gcccttcca gcaagtccac ctctggcgga
420

30 actgccgctc tgggctgcct ggtggaagat tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg
480

aattctggcg ctctgacctc cggcgtgcac acctttccag ctgtgctgca gtcctccggc
540

35 ctgtactccc tgtcctccgt cgtgacagtg ccctccagct ctctgggcac ccagacctac
600

40 atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaagggtg acgagaaggt ggaacccaag
660

tcctgcgacg gtggcgaggg ttccggaggc ggaggatccc aggctgtcgt gaccaggaa
720

45 ccctccctga cagtgtctcc tggcggcacc gtgaccctga cctgtggatc ttctaccggc
780

gctgtgacca cctccaacta cgccaattgg gtgcaggaaa agcccggcca ggccttcaga
840

50 ggactgatcg gcggcaccaa caagagagcc cctggcacc ctgccagatt ctccggttct
900

55 ctgctgggcg gcaaggctgc cctgactctg tctgggtgctc agcctgagga cgaggccgag
960

tactactgcg ccctgtggta ctccaacctg tgggtgttcg gcggaggcac caagctgacc
1020

gtgctgtcca gcgcttccac caagggaccc agtgtgttcc ccctggcccc cagctccaag
1080

5 tctacatccg gtggcacagc tgccttgga tgtctcgtga aggactactt tcctgagcct
1140

gtgacagtgt cttggaacag cggagccctg accagcggag tgcacacatt ccctgcagtg
1200

10 ctgcagagca gcggcctgta tagcctgagc agcgtcgtga ccgtgccttc ctctagcctg
1260

ggaacacaga catatatctg taatgtgaat cataagccca gtaataccaa agtggataag
1320

15 aaagtgaac ctaagagctg cgataagacc cacacctgtc cccctgccc tgctcctgaa
1380

20 gctgctggtg gccctagcgt gttcctgttc ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc
1440

tcccggaccc ccgaagtga ctcgctggtg gtggatgtgt cccacgagga ccctgaagtg
1500

25 aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag
1560

gaacagtaca actccaccta cggggtggtg tccgtgctga cagtgtgca ccaggactgg
1620

30 ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg tccaacaagg ccctgggctc tcccatcgaa
1680

35 aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc cgggaacccc aggtgtacac cctgccccca
1740

tgccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgtggt gcctggtcaa aggcttctat
1800

40 cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc
1860

acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac
1920

45 aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac
1980

50 aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa
2022

<210> 293
<211> 1347
55 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"

5 <400> 293
gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

10 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct
120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac
180

15 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcgtgggtgac
300

20 taccgttacc gttacttcga ctactggggc caaggaaccc tggtcaccgt ctcgagtgtc
360

25 agcaccaagg gcccctccgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc
420

acagccgctc tgggctgcct ggtcgaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg
480

30 aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gaggttctggc
540

ctgtatagcc tgagcagcgt ggtcaccgtg ctttctagca gcctggggcac ccagacctac
600

35 atctgcaacg tgaaccacaa gccagcaac accaagggtg acgagaagggt ggagcccaag
660

40 agctgcgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagctgc agggggaccg
720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccttgag
780

45 gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac
840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa gaaaagccgc gggaggagca gtacaacagc
900

50 acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag
960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ggcgccccca tcgagaaaac catctccaaa
1020

55 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg
1080

accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
 1140
 5 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
 1200
 gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
 1260
 10 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
 1320
 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
 15 1347
 <210> 294
 <211> 645
 <212> ДНК
 20 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 25 полінуклеотид"
 <400> 294
 tcttctgaac tgactcaaga tccagctggt agcgtggctc tgggtcagac tgtacgtatc
 60
 30 acctgccaaag gcgattctct gcgctcctac tacgcaagct ggtaccagca gaaaccgggt
 120
 caggccccag ttctggtgat ttacggcaaa aacaaccgtc cgtctgggat cccggaccgt
 35 180
 ttctccggca gctcttccgg taacacggcg agcctcacca tcaactggcg tcaagcagaa
 240
 40 gacgaggccg actattactg taactctcgg gaaagccac caaccggcct ggttgtcttc
 300
 ggtggcggta ccaagctgac cgtcctaggt caaccgaag ctgccccag cgtgaccctg
 360
 45 ttccccccca gcagcaagaa actgcaggcc aacaaggcca ccctgggtctg cctgatcagc
 420
 gacttctacc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc
 50 480
 ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccg cagcagctac
 540
 55 ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacaggctct acagctgcca ggtgaccac
 600

gagggcagca ccgtggagaa aaccgtggcc cccaccgagt gcagc
645

5 <210> 295
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 295
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120
ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240
atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

30 tgggtcttact acatggacta ttgggggtcaa ggcaccctcg taacgggttc ttct
354

35 <210> 296
<211> 333
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

45 <400> 296
gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

50 atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

55 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcacg gcagacccca
300

acttttggtc aaggcaccaa ggtcgaaatt aaa
333

5 <210> 297
<211> 2019
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

15 <400> 297
caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
60

20 agctgcaaag catccggata caccttcaact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
120
ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
180

25 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
240
atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
300

30 tgggtcttact acatggacta ttgggggtcaa ggcaccctcg taacgggttc ttctgctagc
360

35 accaagggcc cctccgtgtt tcctctggcc cttccagca agtccacctc tggcgggaact
420
gccgctctgg gctgcctggt ggaagattac ttccccgagc ccgtgaccgt gtcttggaat
480

40 tctggcgctc tgacctccgg cgtgcacacc tttccagctg tgctgcagtc ctccggcctg
540
tactccctgt cctccgtcgt gacagtgcc tccagctctc tgggcaccca gacctacatc
600

45 tgcaacgtga accacaagcc ctccaacacc aaggtggacg agaaggtgga acccaagtcc
660

50 tgcgacggtg gcggaggttc cggaggcgga ggatcccagg ctgtcgtgac ccaggaaccc
720
tccttgacag tgtctcctgg cggcaccgtg accctgacct gtggatcttc taccggcgct
780

55 gtgaccacct ccaactacgc caattgggtg caggaaaagc ccggccaggc cttcagagga
840
ctgatcggcg gcaccaacaa gagagcccct ggcaccctg ccagattctc cggttctctg
900

ctgggcgga aggctgccct gactctgtct ggtgctcagc ctgaggacga ggccgagtac
960

5 tactgcgccc tgtggtactc caacctgtgg gtgttcggcg gaggcaccaa gctgaccgtg
1020

ctgtccagcg cttccaccaa gggacccagt gtgttcccc tggccccag ctccaagtct
1080

10 acatccggtg gcacagctgc cctgggatgt ctctgaagg actactttcc tgagcctgtg
1140

acagtgtctt ggaacagcgg agccctgacc agcggagtgc acacattccc tgcagtgtg
15 1200

cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc gtcgtgaccg tgccttcctc tagcctggga
1260

20 acacagacat atatctgtaa tgtgaatcat aagcccagta ataccaaagt ggataagaaa
1320

gtggaaccta agagctgcga taagaccac acctgtcccc cctgccctgc tcctgaagct
1380

25 gctggtggcc ctagcgtgtt cctgttcccc ccaaagcca aggacaccct gatgatctcc
1440

cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg gatgtgtccc acgaggacc tgaagtgaag
30 1500

ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa
1560

35 cagtacaact ccacctaccg ggtggtgtcc gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg
1620

aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc aacaaggccc tgggcgctcc catcgaaaag
1680

40 accatctcca aggccaaggg ccagccccgg gaacccagcgtgtacaccct gccccatgc
1740

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgtggtgcc tgggtcaaagg cttctatccc
45 1800

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag
1860

50 cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag
1920

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac
1980

55 cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaa
2019

<210> 298
 <211> 1344
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 полінуклеотид"
 10
 <400> 298
 caggtgcaat tgggttcaatc tgggtgctgaa gtaaaaaaac cgggcgcttc cgttaaagtg
 60
 15 agctgcaaag catccggata caccttcact tcctattaca tgcactgggt tcgtcaagcc
 120
 ccgggccagg gtctggaatg gatgggcatc attaacccaa gcggtggctc tacctcctac
 180
 20 gcgcagaaat tccagggtcg cgtcacgatg acccgtgaca ctagcacctc taccgtttat
 240
 atggagctgt ccagcctgcg ttctgaagat actgcagtgt actactgtgc acgcggtgac
 25 300
 tgggtcttact acatggacta ttgggggtcaa ggcaccctcg taacggtttc ttctgctagc
 360
 30 accaagggcc cctccgtgtt ccccttgcc cccagcagca agagcaccag cggcggcaca
 420
 gccgctctgg gctgcctggt cgaggactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtcttggaac
 480
 35 agcggagccc tgacctccgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag ttctggcctg
 540
 tatagcctga gcagcgtggt caccgtgcct tctagcagcc tgggcaccca gacctacatc
 40 600
 tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggacg agaaggtgga gcccaagagc
 660
 45 tgcgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagctgcagg gggaccgtca
 720
 gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc
 780
 50 acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg
 840
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg
 55 900
 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac
 960

aagtgcaagg tctccaacaa agccctcggc gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc
1020

5 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtgc accctgcccc catcccggga tgagctgacc
1080

aagaaccagg tcagcctctc gtgcgcagtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg
1140

10 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac
1200

15 tccgacggct ccttcttctt cgtgagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag
1320

20 agcctctccc tgtctccggg taaa
1344

<210> 299
<211> 654
25 <212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
30 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
полінуклеотид"

<400> 299
35 gatattgtta tgactcaatc tccactgtct ctgccggtga ctccaggcga accggcgagc
60

atttcttgcc gttccagcca gtctctgctg cactccaacg gctacaacta tctcgattgg
120

40 tacctgcaaa aaccgggtca gagccctcag ctgctgatct acctgggctc taaccgcgct
180

tccggtgtac cggaccgttt cagcggctct ggatccggca ccgatttcac gttgaaaatc
240

45 agccgtgttg aagcagaaga cgtgggcggt tattactgta tgcaggcacg gcagacccca
300

acttttggtc aaggcaccaa ggtcgaaatt aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc
360

50 atcttcccgc catctgatcg gaagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg
420

55 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg
480

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc
 540
 agcacccctga cgctgagcaa agcagactac gagaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc
 5 600
 acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt
 654
 10 <210> 300
 <211> 50
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(50)
 <223> /примітка="Ця послідовність може включати 1-10 'Gly Gly Gly Gly
 Ser'
 25 повторюваних одиниць, де можуть бути відсутні деякі позиції"
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Див. заявку, як вказано в докладному описі
 30 заміщень і переважних варіантів здійснення"
 <400> 300
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 35 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 40 35 40 45
 Gly Ser
 50
 45 <210> 301
 <211> 50
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"
 55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(50)

<223> /примітка="Ця послідовність може включати 1-10 'Ser Gly Gly Gly Gly' повторюваних одиниць, де можуть бути відсутні деякі позиції"

5 <220>
<221> джерело
<223> /примітка="Див. заявку, як вказано в докладному описі заміщень і переважних варіантів здійснення"

10 <400> 301
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
15 20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
35 40 45
20 Gly Gly
50
<210> 302
<211> 54
25 <212> Білок
<213> Штучна послідовність
<220>
<221> джерело
30 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"
<220>
<221> misc_feature
35 <222> (5)..(54)
<223> /примітка="Ця ділянка може включати 1-10 'Ser Gly Gly Gly Gly' повторюваних одиниць, де можуть бути відсутні деякі позиції"
<220>
40 <221> джерело
<223> /примітка="Див. заявку, як вказано в докладному описі заміщень і переважних варіантів здійснення"
<400> 302
45 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30
50 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Ser Gly Gly Gly Gly
55 50
<210> 303
<211> 10

<212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 5 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

 <400> 303
 10 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

 <210> 304
 <211> 15
 15 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 20 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

 <400> 304
 25 Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

 <210> 305
 <211> 16
 <212> Білок
 30 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"
 35

 <400> 305
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 40
 <210> 306
 <211> 5
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетична Penta-His мітка"
 50
 <400> 306
 His His His His His
 1 5
 55 <210> 307
 <211> 104
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 5 поліпептид"

 <400> 307
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 10 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 15 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 20 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 25 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 100

 <210> 308
 30 <211> 692
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 35 <221> джерело
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид"

 <400> 308
 40 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
 45 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 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr His Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 55 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

UA 122676 C2

				100					105					110			
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
			115					120					125				
5	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
		130					135					140					
10	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	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		
15	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				
20	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Gly	
		210					215					220					
25	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	
	225					230					235					240	
	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	
					245					250					255		
30	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	
				260					265					270			
	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	
			275					280					285				
35	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	
		290					295					300					
40	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	
	305					310					315					320	
	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	
					325					330					335		
45	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
			340						345					350			
	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	
			355					360					365				
50	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	
		370					375					380					
55	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	
	385					390					395					400	
	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	
					405					410					415		

	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	
				420					425					430			
5	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	
			435					440					445				
	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	
		450					455					460					
10	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	
	465					470					475					480	
	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	
15					485					490					495		
	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	
				500					505					510			
20	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	
			515					520					525				
	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	
		530					535					540					
25	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	
	545					550					555					560	
	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	
30					565					570					575		
	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	
				580					585					590			
35	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	
			595					600					605				
	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	
		610					615					620					
40	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	
	625					630					635					640	
	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	
45					645					650					655		
	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	
				660					665					670			
50	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	
			675					680					685				
	Ser	Pro	Gly	Lys													
		690															
55																	
	<210>	309															
	<211>	449															
	<212>	Білок															

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

5 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 309

10	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	
15	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	
20	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	
25	Ala Arg Ser Phe Phe Thr Gly Phe His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	100	105	110	
30	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	
35	Gly Cys Leu Val Lys 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	
40	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 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys	210	215	220	
50	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	
55	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

5 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

10 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
15 340 345 350

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

20 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

25 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
30 420 425 430

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

35 Lys

<210> 310
<211> 216
40 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
45 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид"

<220>
<221> MOD_RES
50 <222> (201)..(201)
<223> Будь-яка амінокислота

<400> 310
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
55 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
 5 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
 10 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 Glu Gln Leu Lys
 115 120 125
 20 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
 25 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 Xaa Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205
 35 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 311
 <211> 7
 40 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 45 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
 пептид"
 <400> 311
 Gly Thr Asn Ala Arg Ala Pro
 50 1 5
 <210> 312
 <211> 9
 <212> Білок
 55 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело

```

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        пептид"

<400> 312
5  Ala Leu Trp Tyr Ala Asn Leu Trp Val
   1                      5

<210> 313
<211> 5
10  <212> Білок
    <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
15  <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        пептид"

<400> 313
20  Asn Ala Trp Met His
    1                      5

<210> 314
<211> 19
<212> Білок
25  <213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
30  пептид"

<400> 314
Ser Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
1              5              10              15
35  Val Lys Gly

<210> 315
40  <211> 9
    <212> Білок
    <213> Штучна послідовність

<220>
45  <221> джерело
    <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        пептид"

<400> 315
50  Pro Tyr Glu Trp Ser Trp Tyr Asp Tyr
    1                      5

<210> 316
<211> 218
55  <212> Білок
    <213> Штучна послідовність

<220>

```


<221> джерело

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

5 <400> 316
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 10 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 15 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 20 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Arg Gln Thr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 25 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys
 115 120 125
 30 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 35 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 40 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 45 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

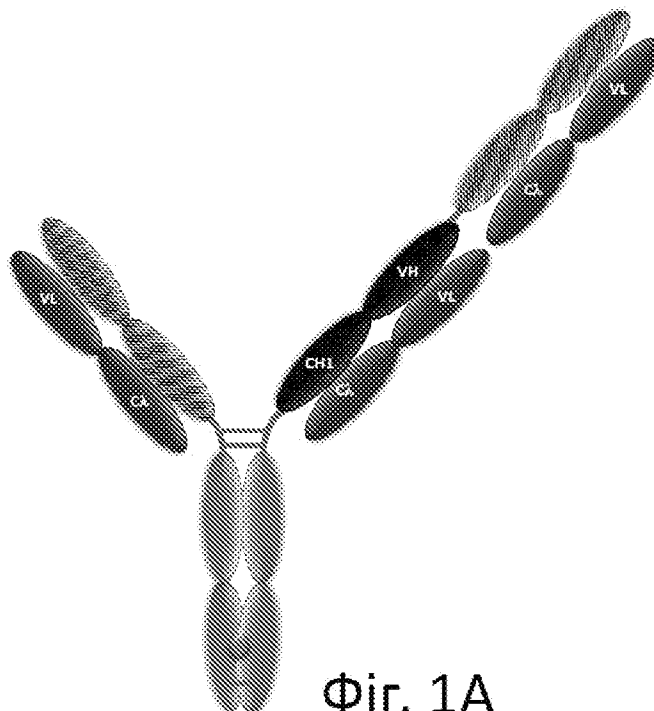
50

1. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить:

(I) перший антигензв'язувальний фрагмент, який являє собою молекулу Fab, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3, і що містить щонайменше одну амінокислотну послідовність гіперваріабельної ділянки (CDR) важкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 і SEQ ID NO: 39, і щонайменше одну CDR легкого ланцюга, вибрану із групи, яка складається з SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34;
 55 (II) другий антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FolR1);
 де антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FolR1, містить:

- а) CDR1 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 16, CDR2 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 17, CDR3 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 18, CDR1 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 33 та CDR3 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 34;
- 5 б) CDR1 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 8, CDR2 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 56, CDR3 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 57, CDR1 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 59, CDR2 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 60 та CDR3 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 65; або
- 10 в) CDR1 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 16, CDR2 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 275, CDR3 важкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 315, CDR1 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 32, CDR2 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 33 та CDR3 легкого ланцюга послідовності SEQ ID NO: 34.
- 15 2. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за п. 1, у якій перший антигензв'язувальний фрагмент містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.
3. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за п. 1 або п. 2, яка додатково містить:
- 20 (III) третій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FcR1.
4. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-3, у якій щонайменше один другий і третій антигензв'язувальні фрагменти являють собою молекулу Fab.
5. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-4, що додатково містить:
- 25 (IV) Fc-домен, що складається з першої й другої субодиниць, що мають здатність до стабільної асоціації.
6. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-5, у якій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FcR1), містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.
- 30 7. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-5, у якій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з фолатним рецептором 1 (FcR1), містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.
- 35 8. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-5, у якій антигензв'язувальний фрагмент, що має здатність специфічно зв'язуватися з FcR1, містить варіабельний важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 274, і варіабельний легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.
- 40 9. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за п. 7, у якій перший антигензв'язувальний фрагмент являє собою кросовер-молекулу Fab, у якій обмінні або варіабельні, або константні ділянки легкого ланцюга Fab і важкого ланцюга Fab.
10. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 5-9, у якій Fc-домен являє собою Fc-домен імуноглобуліну IgG-класу, насамперед Fc-домен IgG₁ або IgG₄.
- 45 11. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 5-10, у якій Fc-домен являє собою людський Fc-домен.
12. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 5-11, у якій Fc-домен містить модифікацію, що сприяє асоціації першої й другої субодиниць Fc-домену.
- 50 13. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за п. 12, у якій в CH3-домени першої субодиниці Fc-домену амінокислотний залишок замінений на амінокислотний залишок, що має більший об'єм бокового ланцюга, що приводить до утворення опуклості на CH3-домени першої субодиниці, яка може поміщатися в порожнину в CH3-домени другої субодиниці, а в CH3-домени другої субодиниці Fc-домену амінокислотний залишок замінений на амінокислотний залишок, що має менший об'єм бокового ланцюга, що приводить до утворення порожнини в CH3-домени другої субодиниці, у яку може поміщатися опуклість на CH3-домени першої субодиниці.
- 55

14. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 5-13, у якій Fc-домен містить щонайменше одну амінокислотну заміну, яка знижує зв'язування з Fc-рецептором та/або ефекторну функцію в порівнянні з нативним Fc-доменом IgG₁.
15. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, за п. 14, у якій кожна субодинаця Fc-домену містить три амінокислотні заміни, які знижують зв'язування з активуючим Fc-рецептором та/або ефекторну функцію, де вказані амінокислотні заміни являють собою L234A, L235A і P329G (нумерація згідно із Кеботом).
16. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 276 та додатково містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 277 і SEQ ID NO: 35.
17. Виділений полінуклеотид, який кодує біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину за будь-яким із пп. 1-15 або її фрагмент.
18. Поліпептид, який кодується полінуклеотидом за п. 17.
19. Вектор, зокрема експресійний вектор, що містить полінуклеотид за п. 17.
20. Клітина-хазяїн, що містить полінуклеотид за п. 17 або вектор за п. 19.
21. Спосіб одержання біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, що має здатність специфічно зв'язуватися з CD3 і антигеном клітини-мішені, що включає стадії, на яких а) культивують клітину-хазяїна за п. 20 в умовах, придатних для експресії біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, і б) виділяють біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину.
22. Біспецифічна антигензв'язувальна молекула, що активує Т-клітину, отримана способом за п. 21.
23. Фармацевтична композиція, що містить біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину за будь-яким із пп. 1-16, і фармацевтично прийнятний носій.
24. Застосування біспецифічної антигензв'язувальної молекули, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-16 для приготування лікарського засобу для лікування захворювання в індивідуума, який цього потребує.
25. Спосіб лікування захворювання в індивідуума, що включає введення вказаному індивідуумові в терапевтично ефективній кількості композиції, що містить біспецифічну антигензв'язувальну молекулу, що активує Т-клітину за будь-яким із пп. 1-16 у фармацевтично прийнятній формі.
26. Застосування за п. 24 або спосіб за п. 25, у якому вказане захворювання являє собою рак.
27. Спосіб індукції лізису FolR1⁺-клітини-мішені, що включає приведення в контакт клітини-мішені з біспецифічною антигензв'язувальною молекулою, що активує Т-клітину, за будь-яким із пп. 1-16 у присутності CD3⁺-Т-клітини.



Фіг. 1А

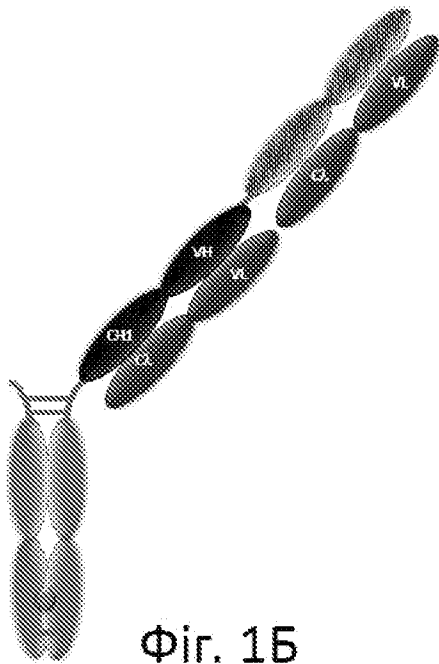


Fig. 1B

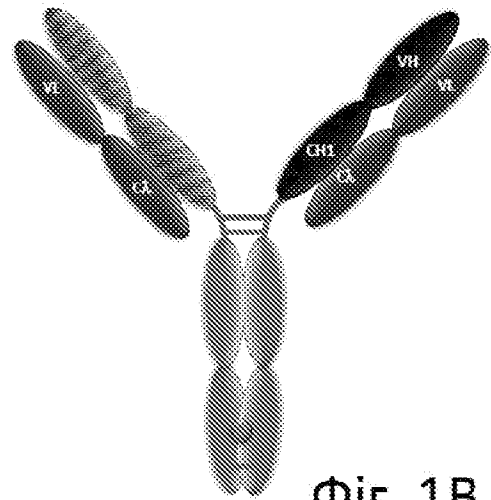


Fig. 1C

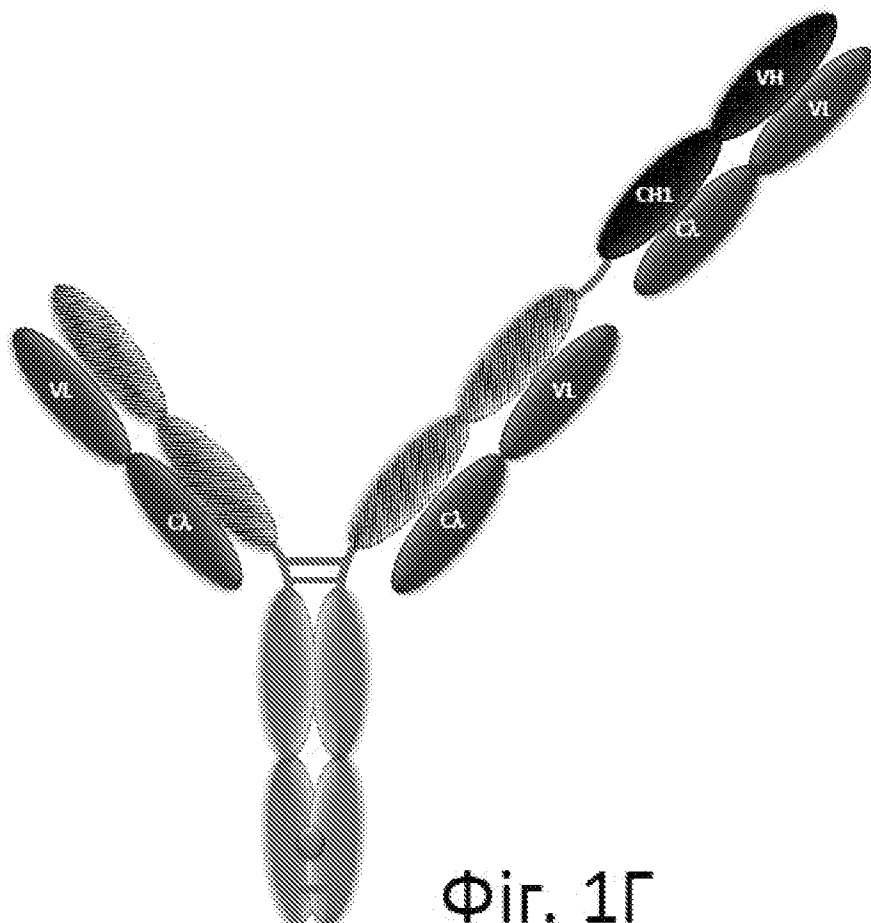
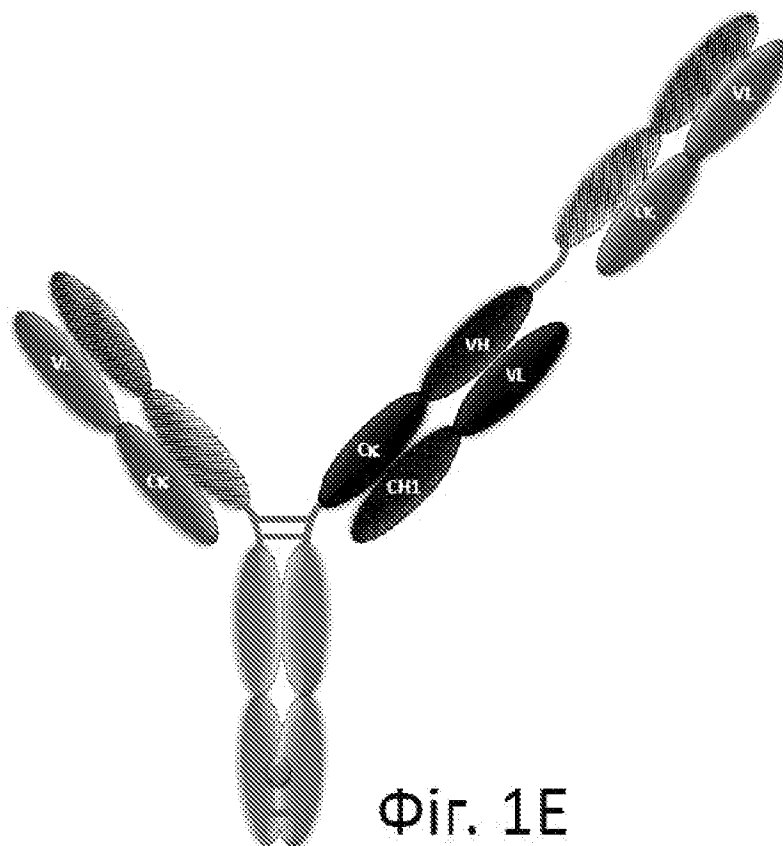
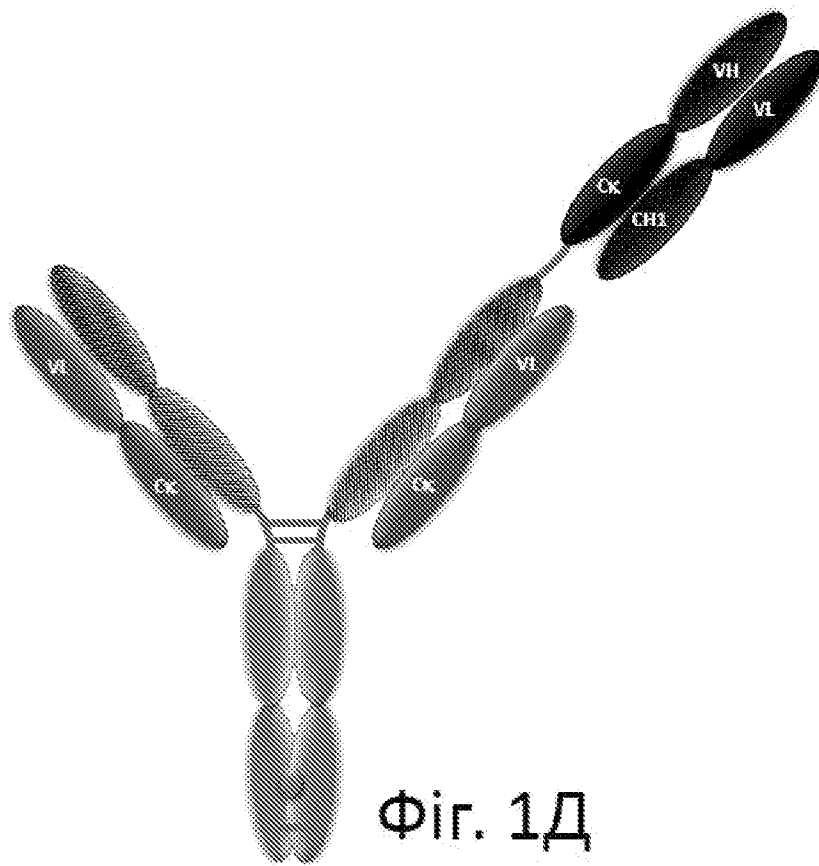
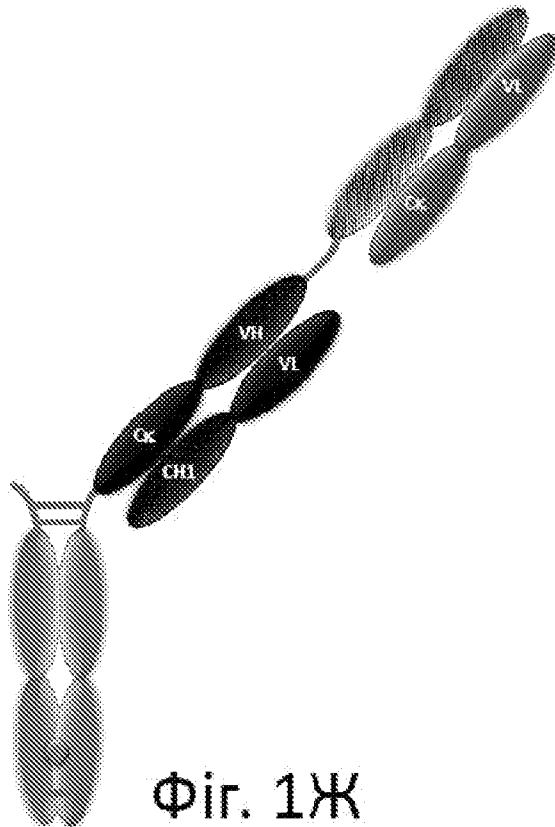
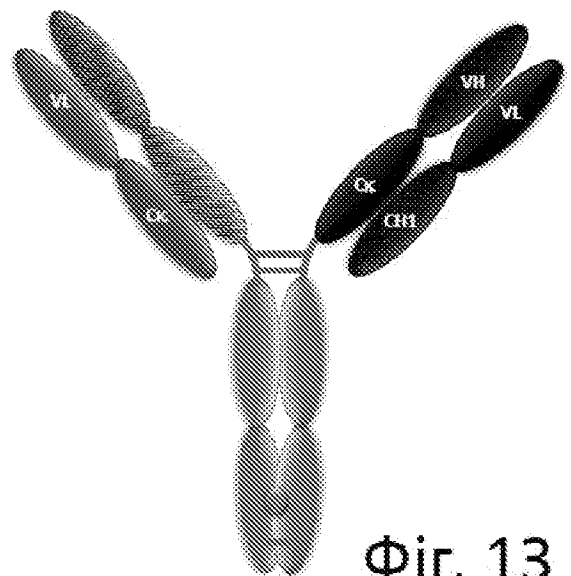


Fig. 1D

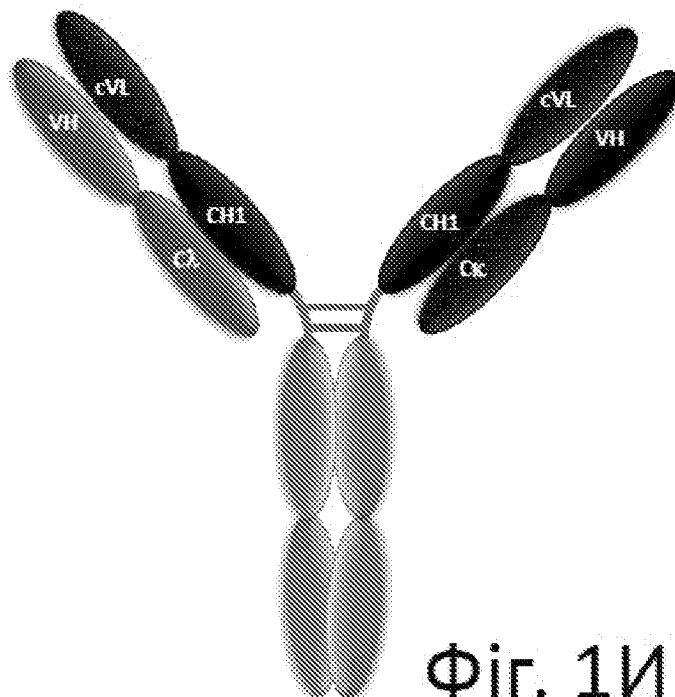




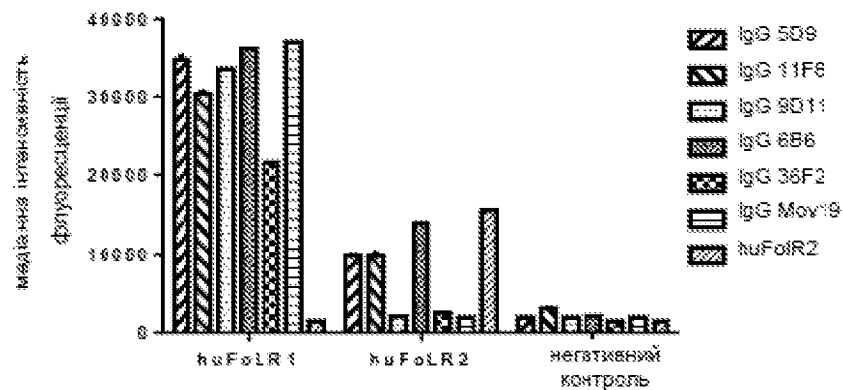
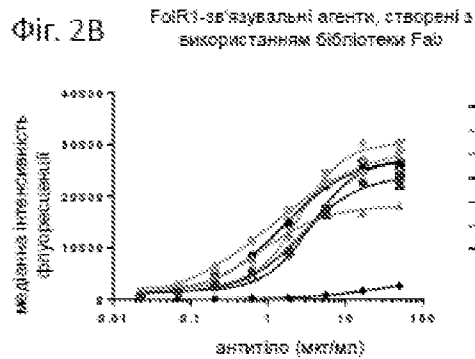
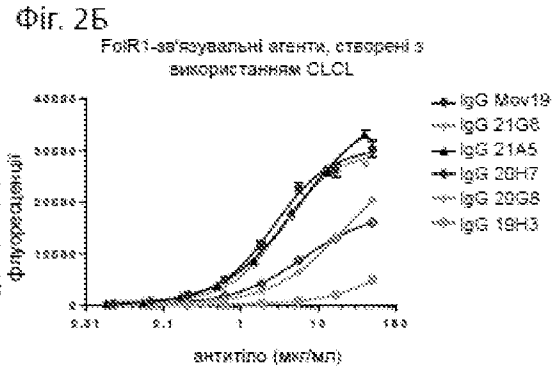
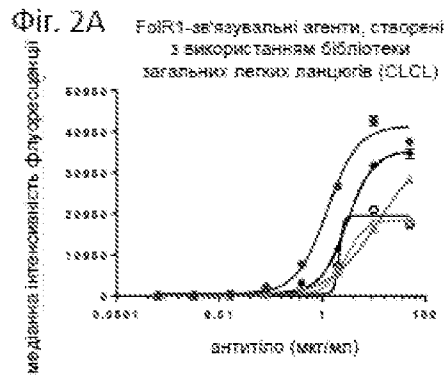
Фиг. 1Ж



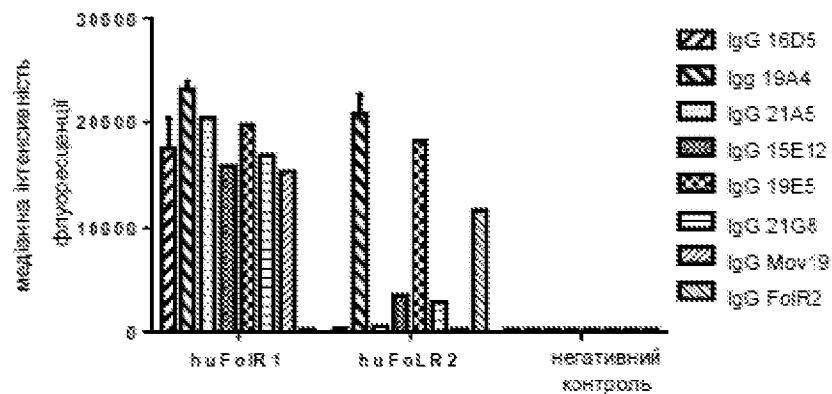
Фиг. 13



Фиг. 1И

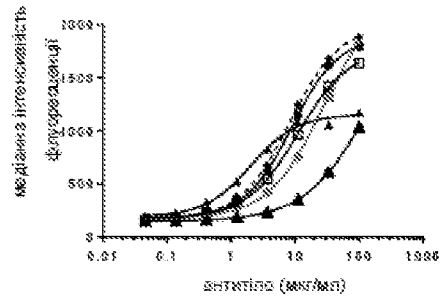


Фіг. 3А



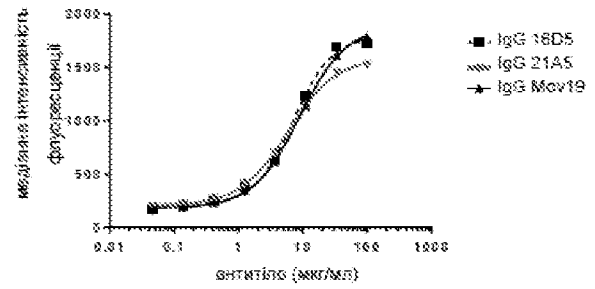
Фіг. 3Б

FcγR1-зв'язувальні агенти, створені з використанням Fab

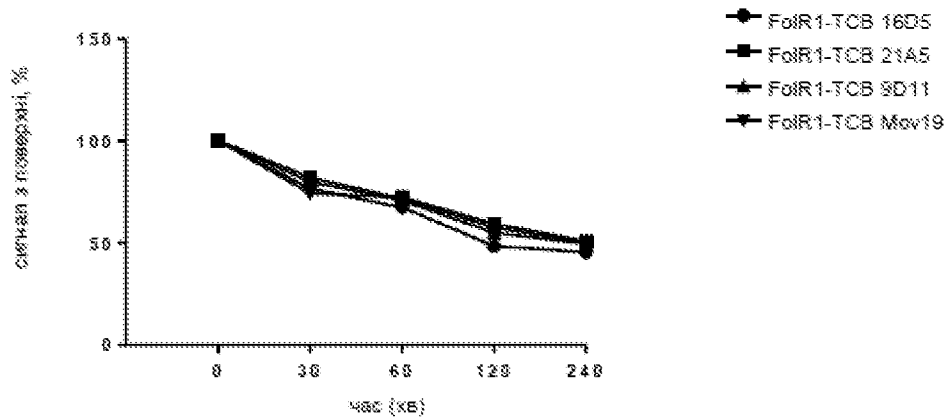


Фіг. 4А

FcγR1-зв'язувальні агенти, створені з використанням бібліотеки CLCL

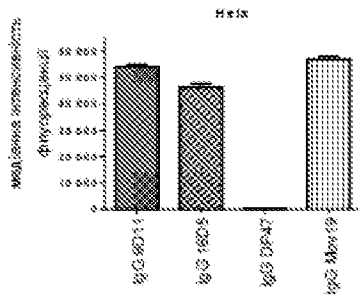


Фіг. 4Б

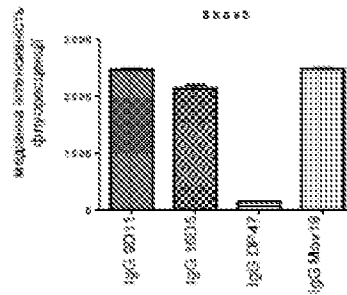


Фіг. 5

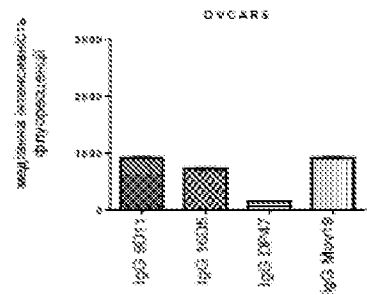
5



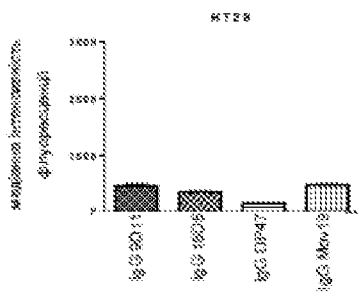
Фіг. 6А



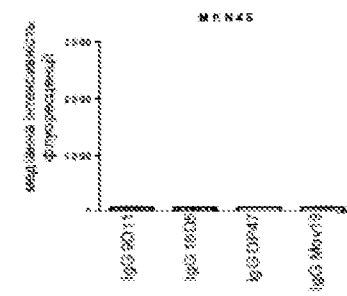
Фіг. 6Б



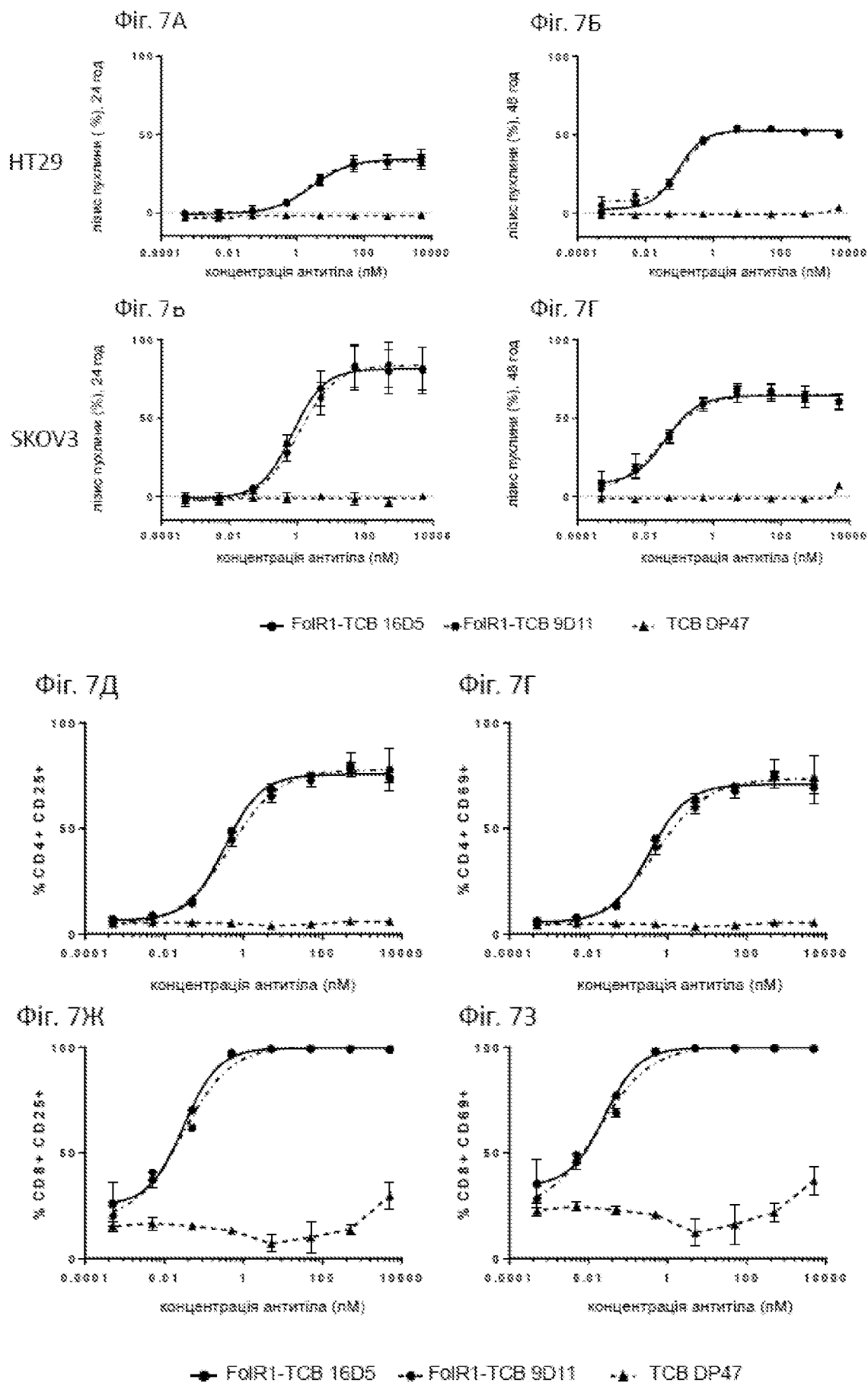
Фіг. 6В



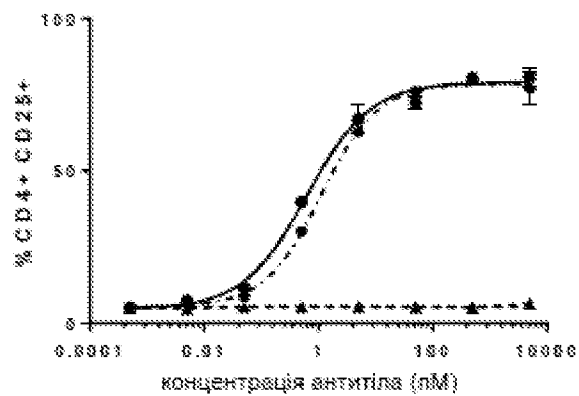
Фіг. 6Г



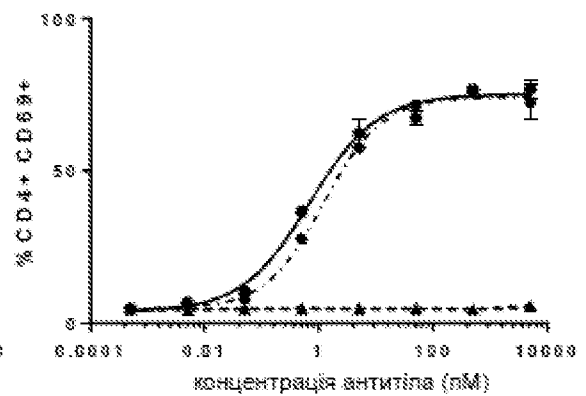
Фіг. 6Д



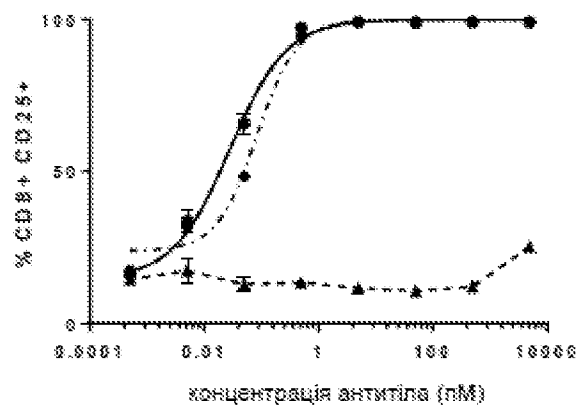
Фіг. 7И



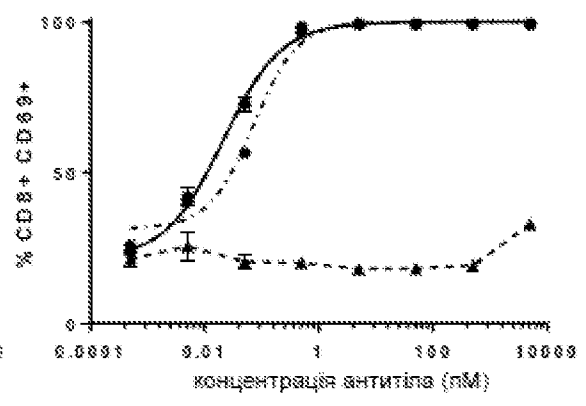
Фіг. 7К



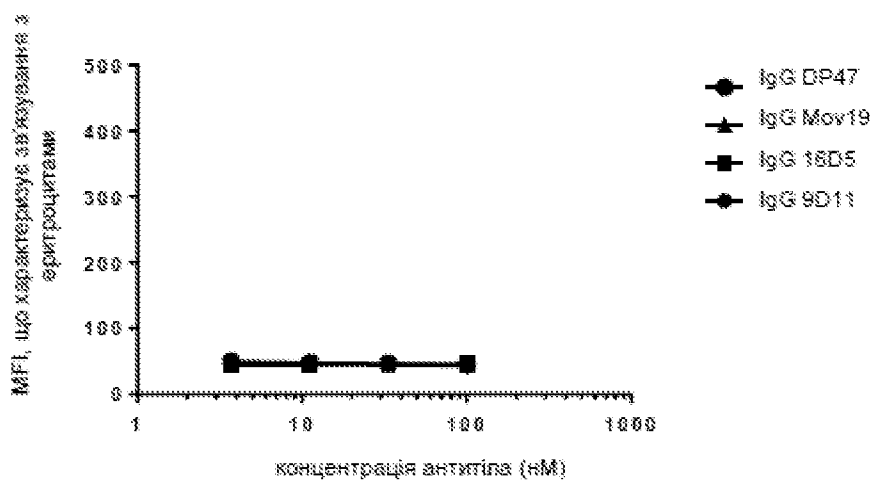
Фіг. 7Л



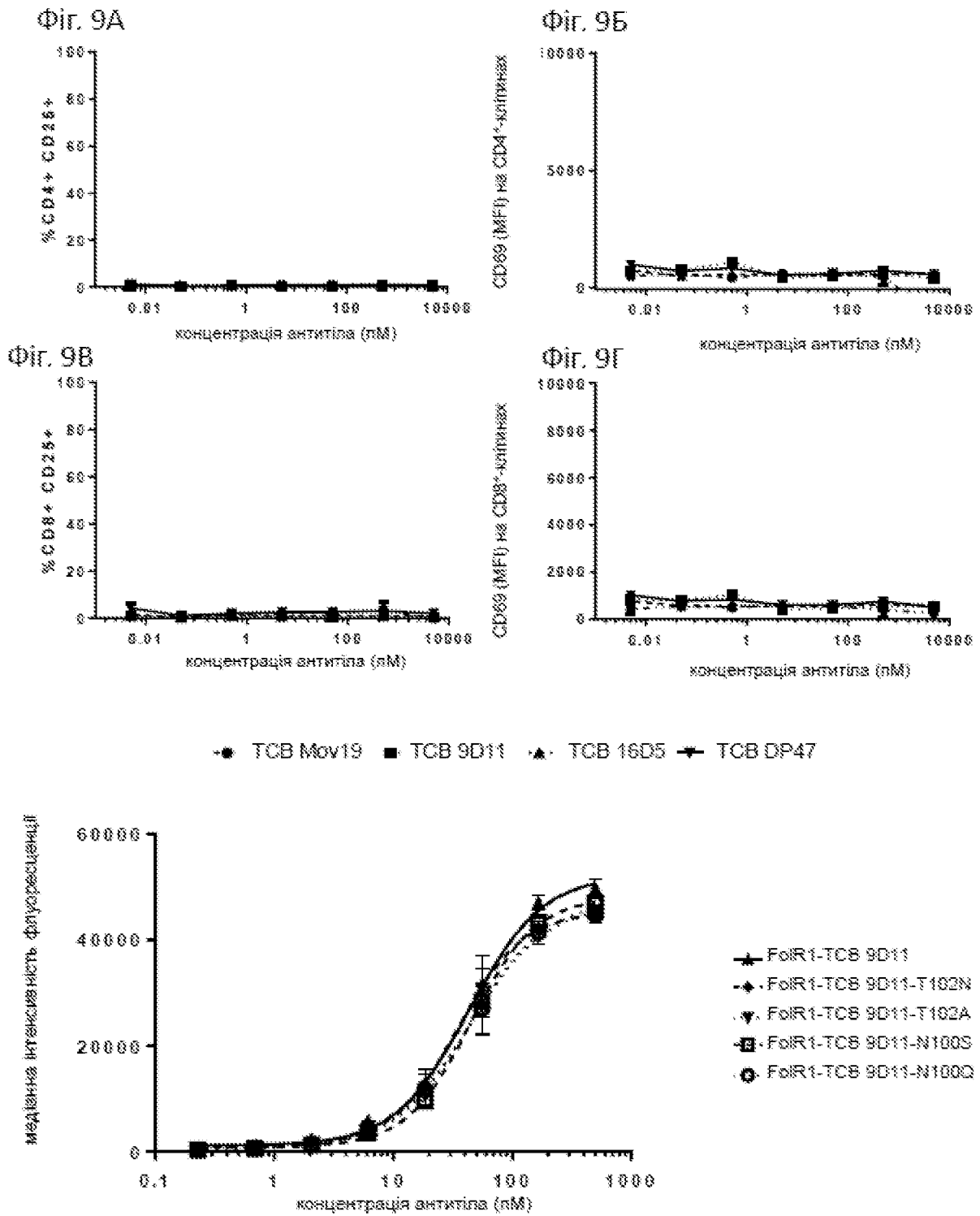
Фіг. 7М



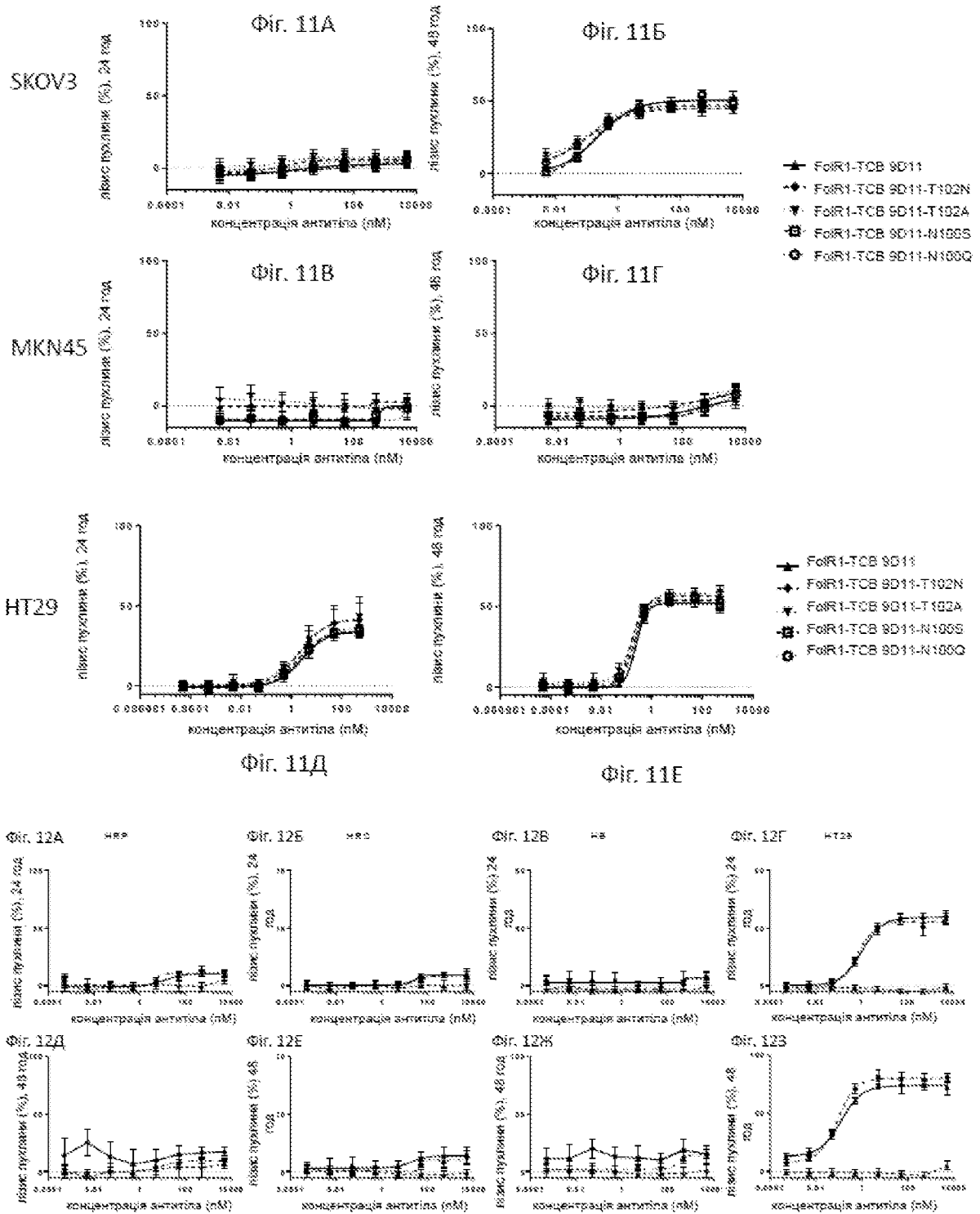
● FcR1-TCB 16D5 ● FcR1-TCB 9D11 ▲ TCB DP47



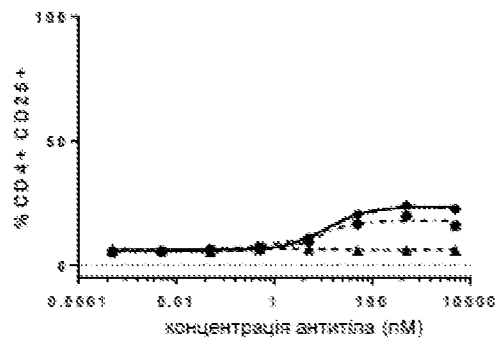
Фіг. 8



Фіг. 10

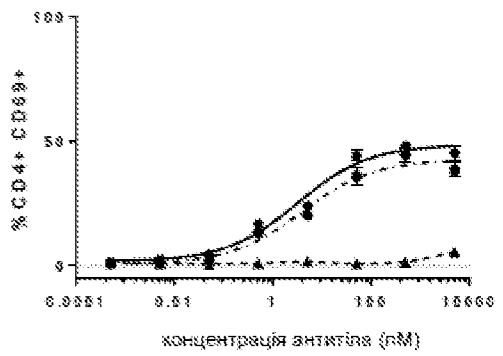


Фіг. 12И

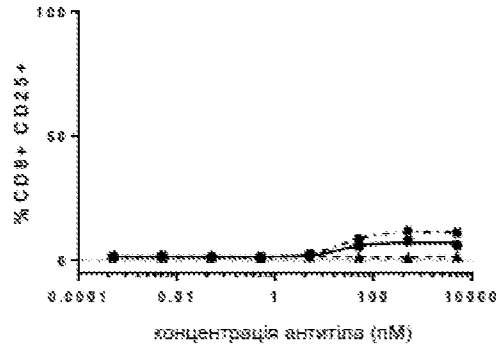


HRP

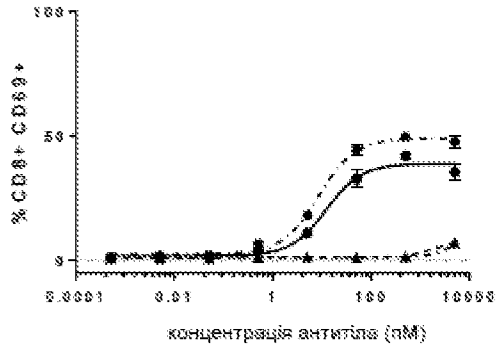
Фіг. 12К



Фіг. 12Л

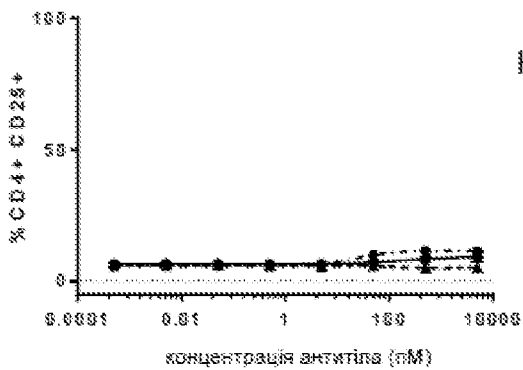


Фіг. 12М



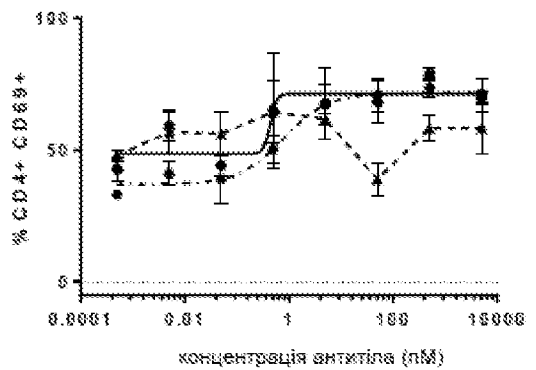
● FcR1-TCB 16D5 ● FcR1-TCB 9D11 ▲ TCB DP47

Фіг. 12Н

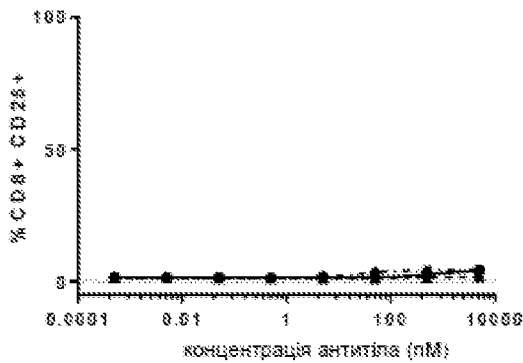


HRC

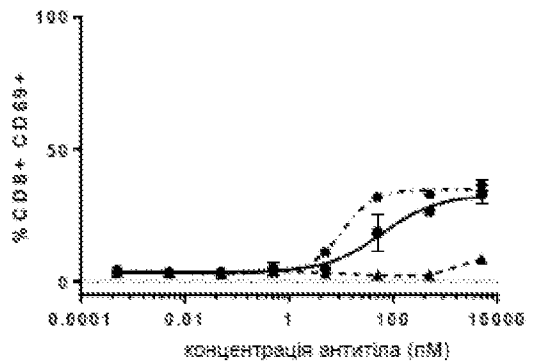
Фіг. 12О



Фіг. 12П

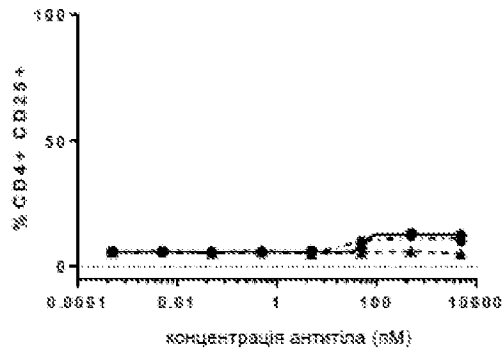


Фіг. 12Р

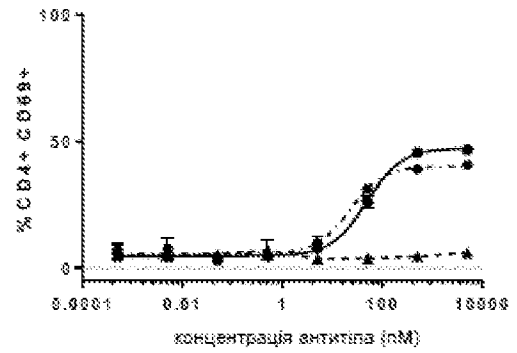


● FcR1-TCB 16D5 ● FcR1-TCB 9D11 ▲ TCB DP47

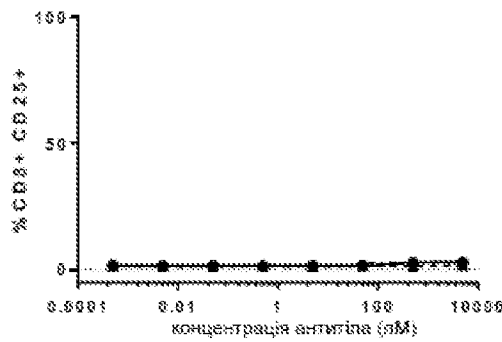
Фіг. 12С



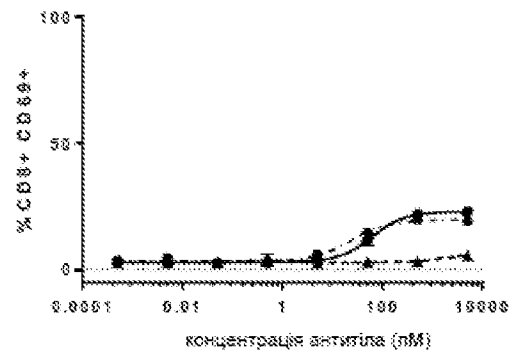
Фіг. 12Т



Фіг. 12У

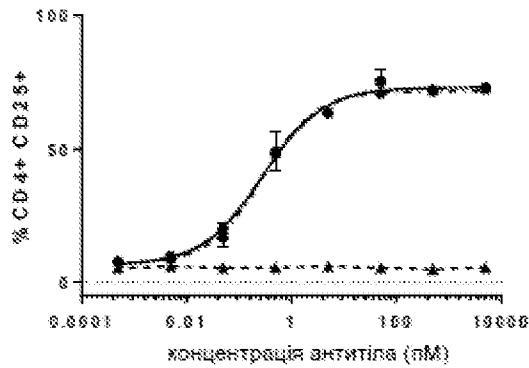


Фіг. 12Ф

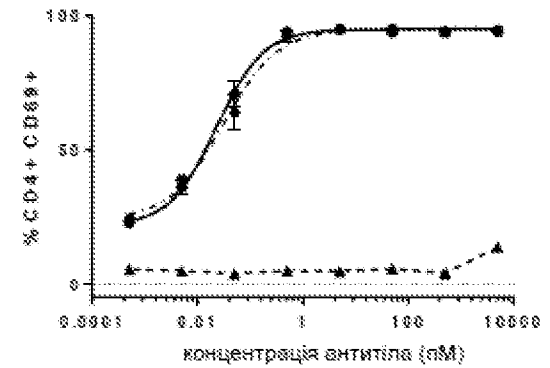


● FcR1-TCB 16D5 ■ FcR1-TCB 9D11 ▲ TCB DP47

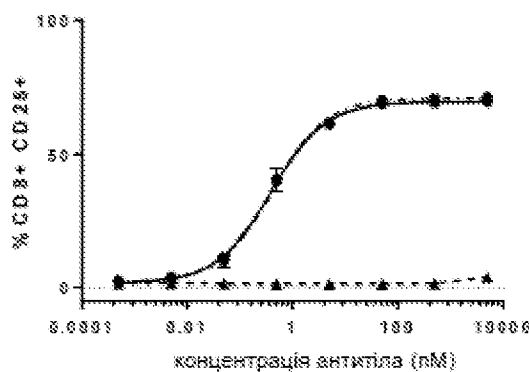
Фіг. 12Х



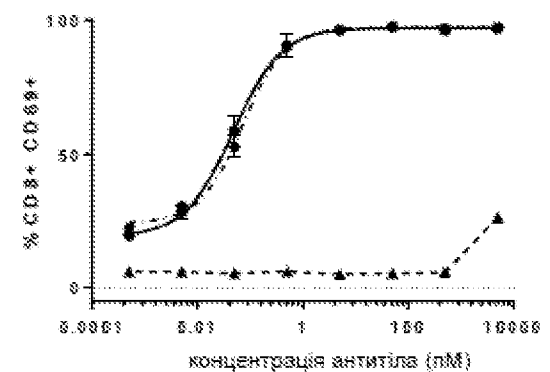
Фіг. 12Ц



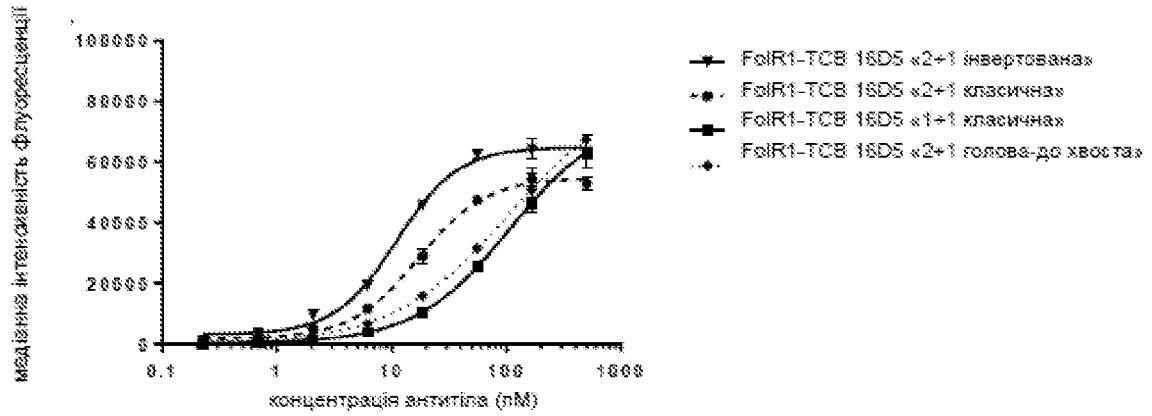
Фіг. 12Ч



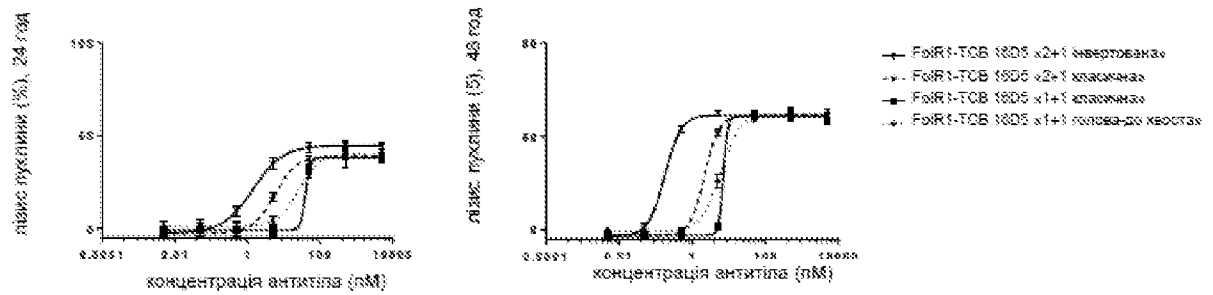
Фіг. 12Ш



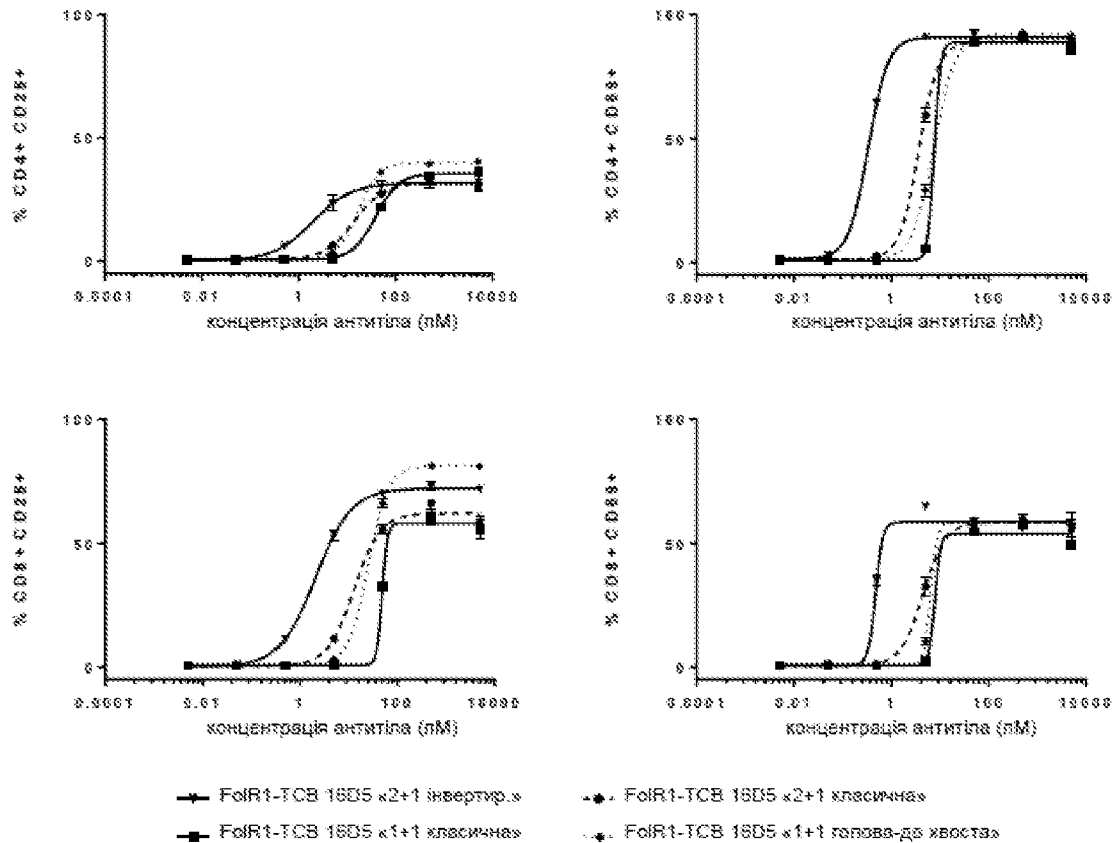
● FcR1-TCB 16D5 ■ FcR1-TCB 9D11 ▲ TCB DP47



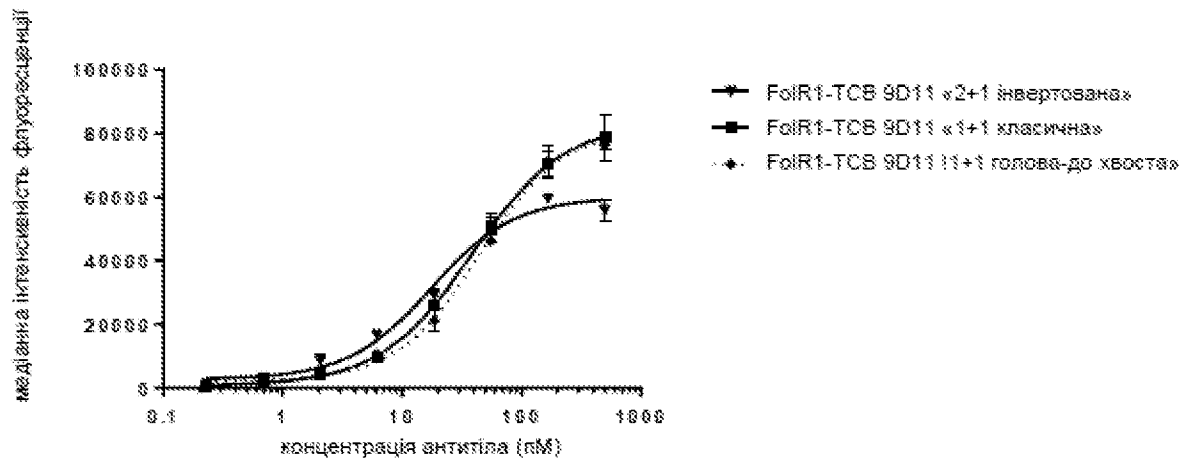
Фіг. 13А



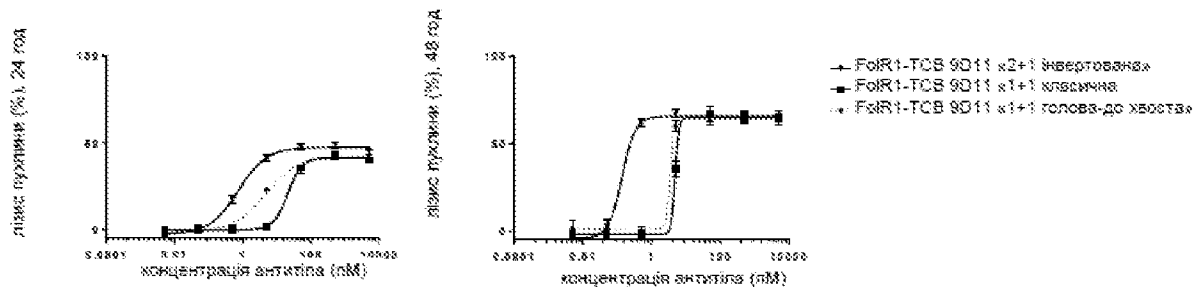
Фіг. 13Б



Фіг. 13В

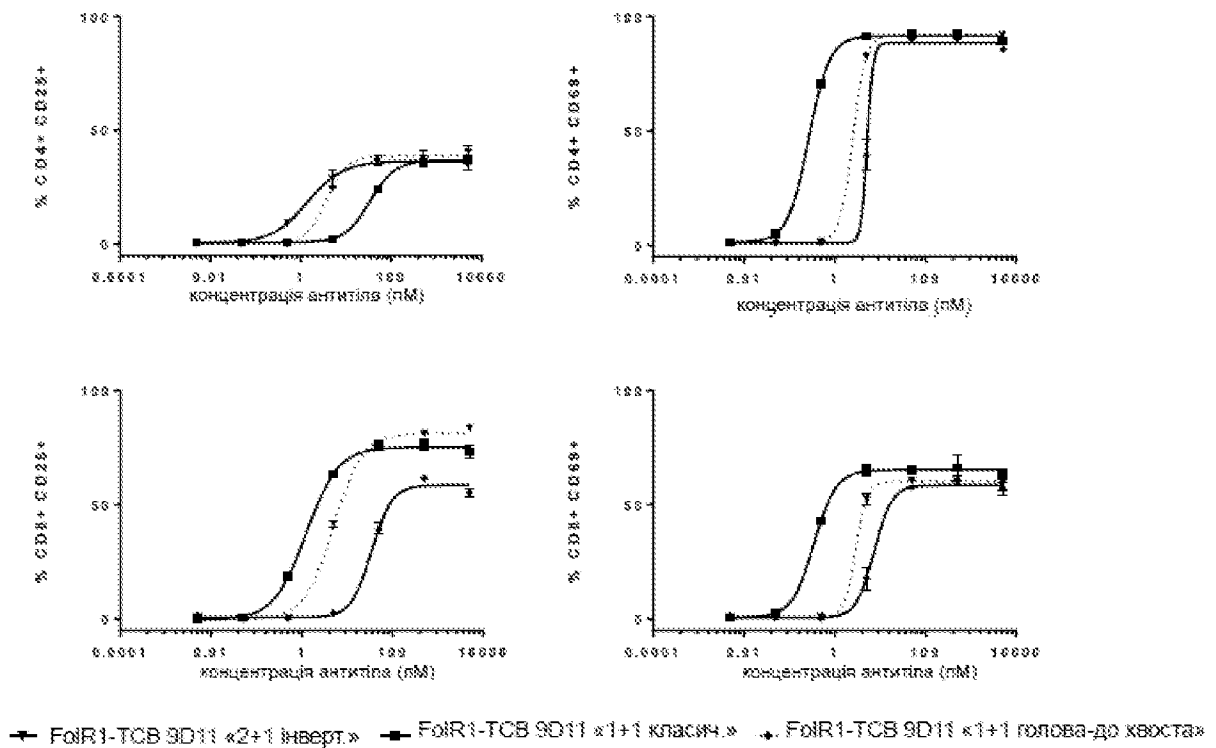


Фіг. 14А

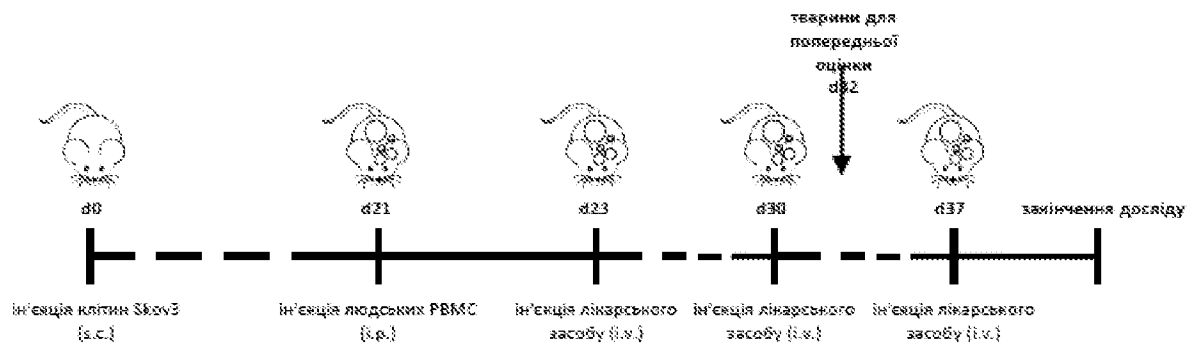
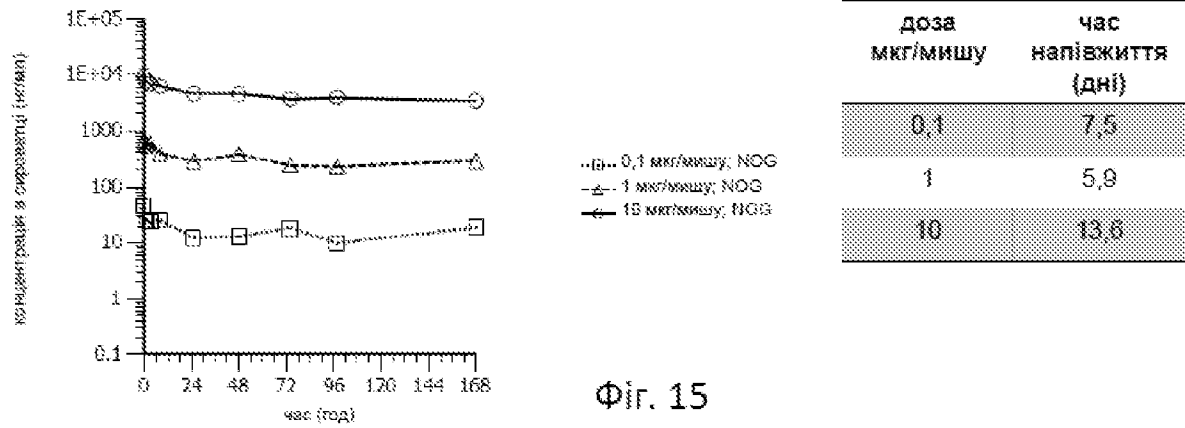


Фіг. 14Б

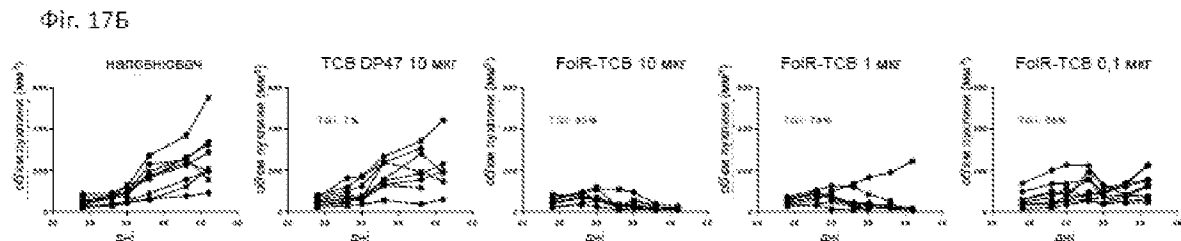
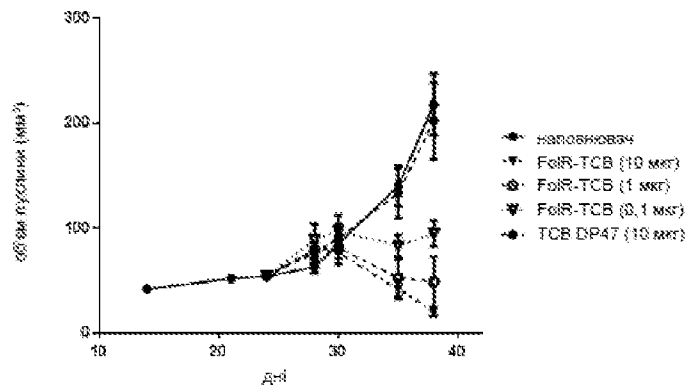
5

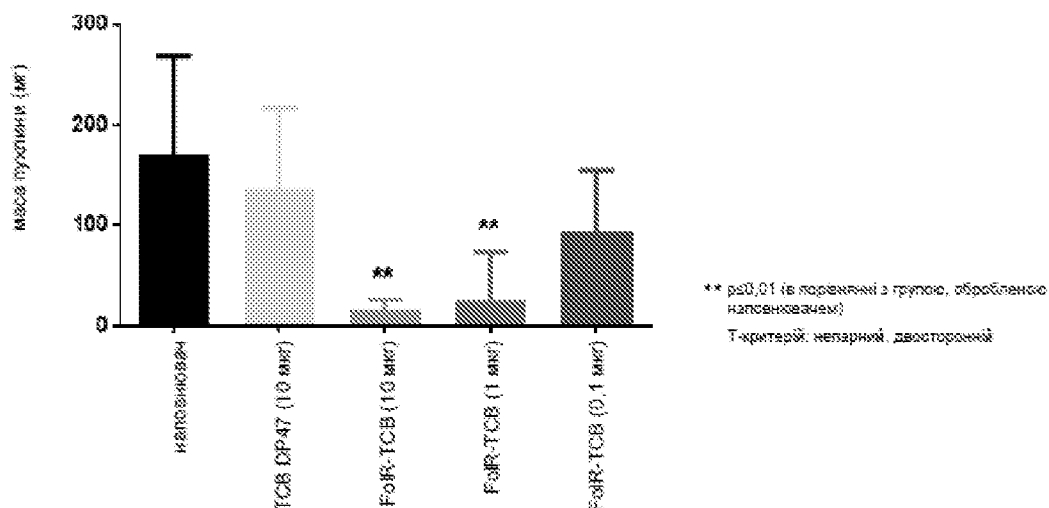


Фіг. 14В

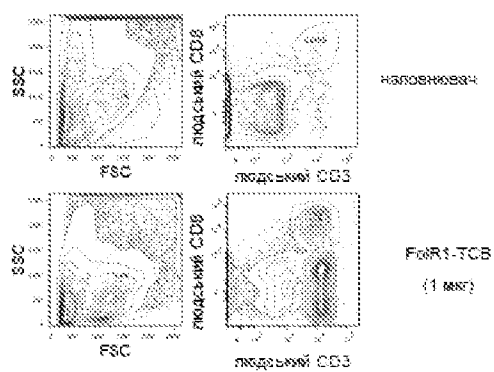


Фіг. 17А

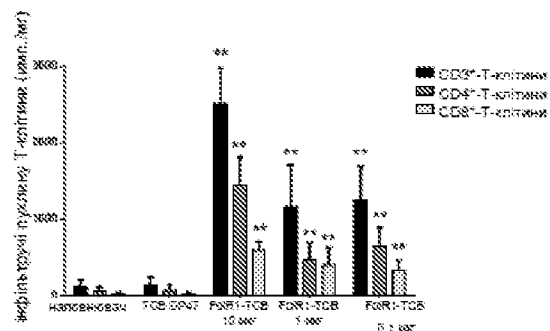




Фіг. 18



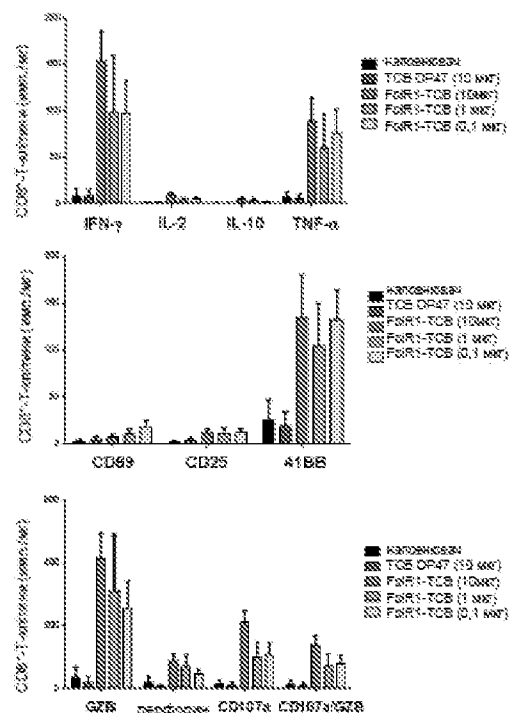
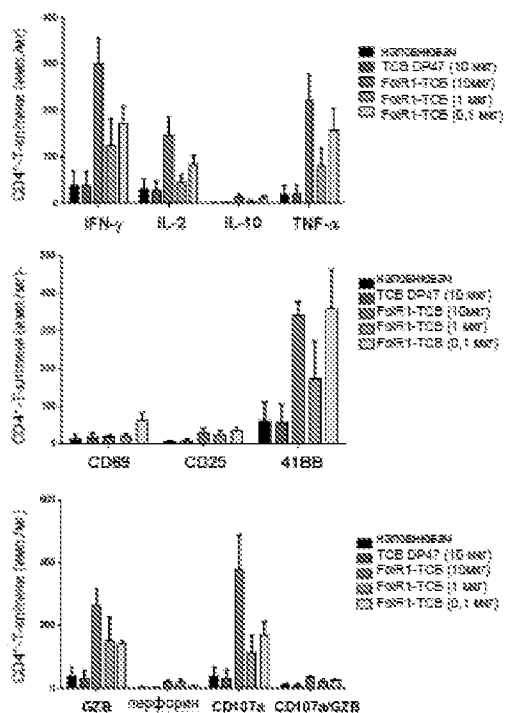
Фіг. 19А

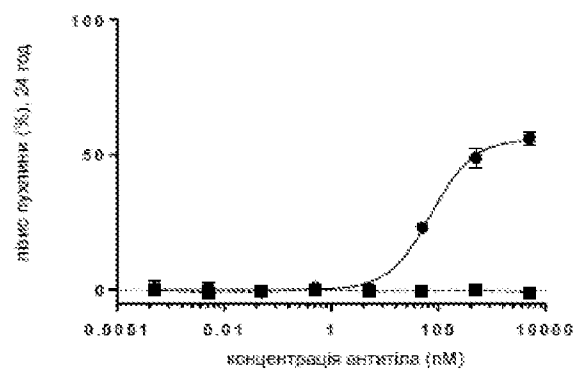


Фіг. 19Б

Фіг. 20А

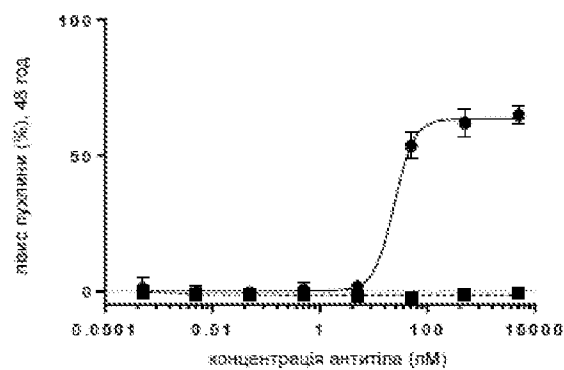
Фіг. 20Б





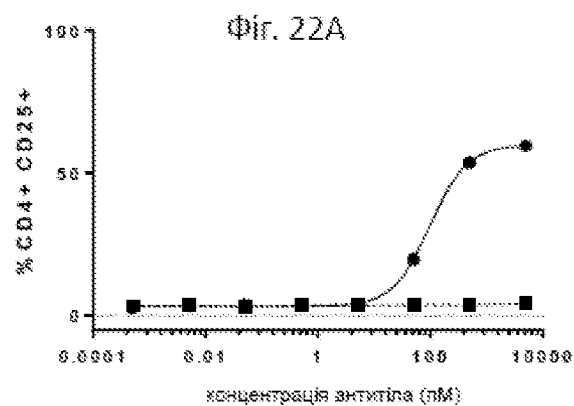
Фіг. 21А

■ TCB DP47

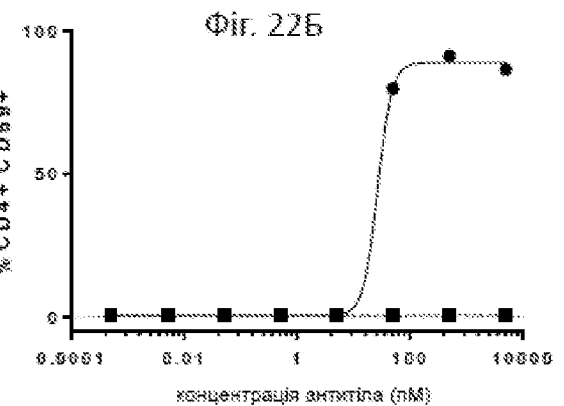


Фіг. 21Б

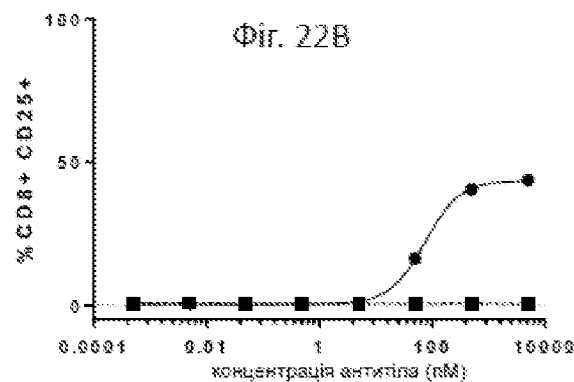
● FcR1-TCB-капа-лямбда



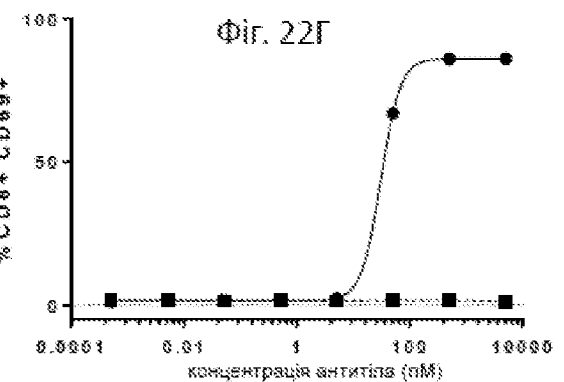
Фіг. 22А



Фіг. 22Б



Фіг. 22В

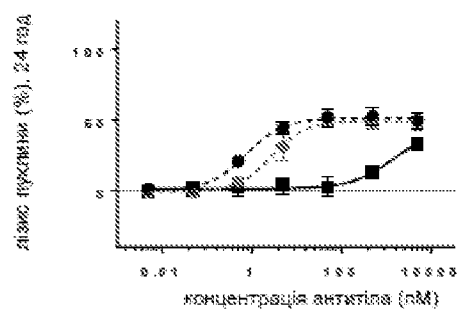


Фіг. 22Г

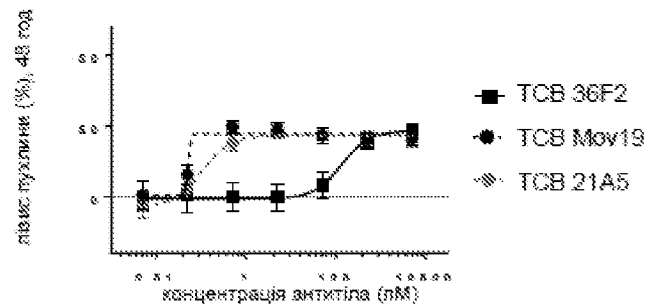
■ TCB DP47

● FcR1-TCB-капа-лямбда

5

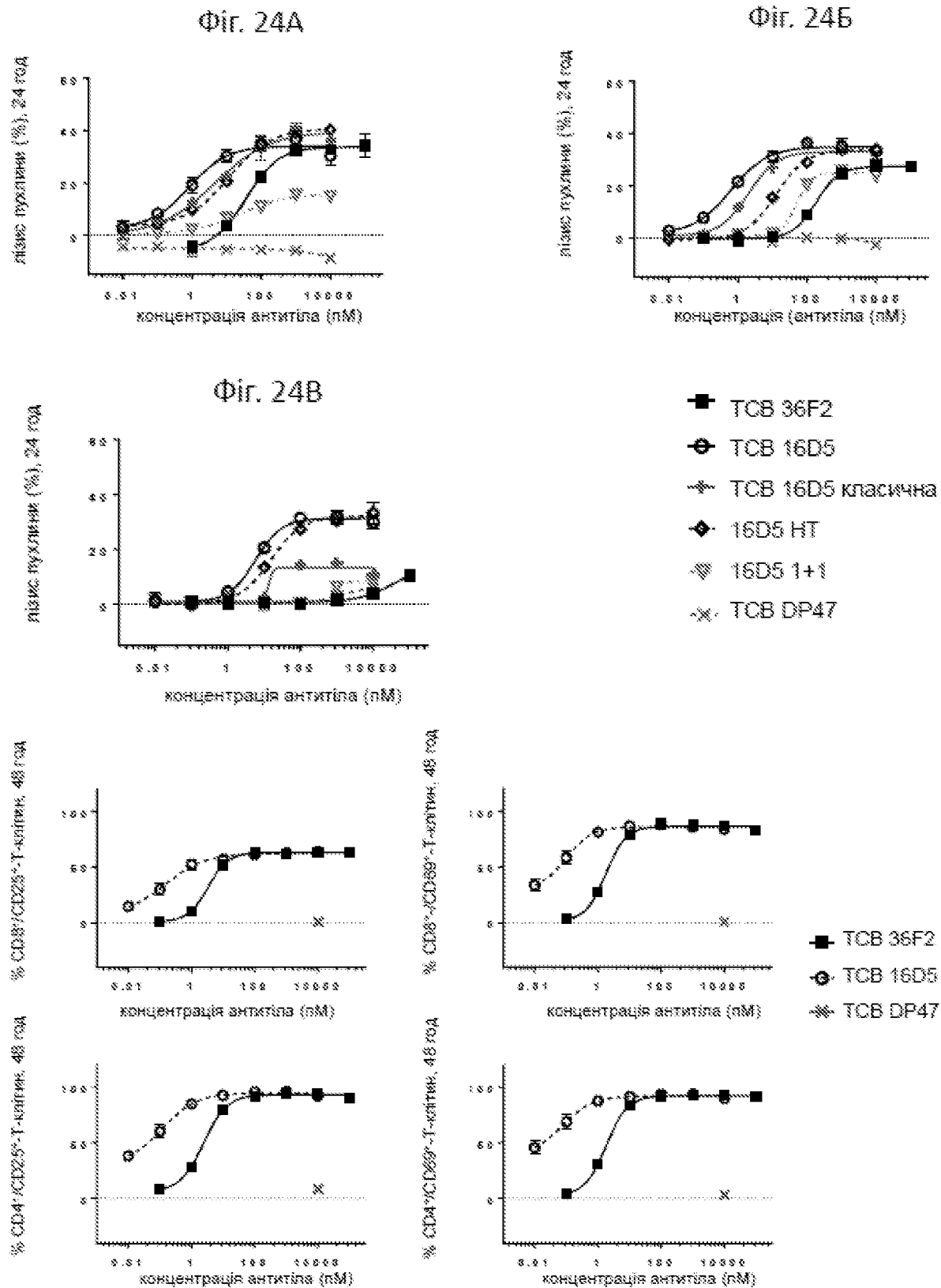


Фіг. 23А

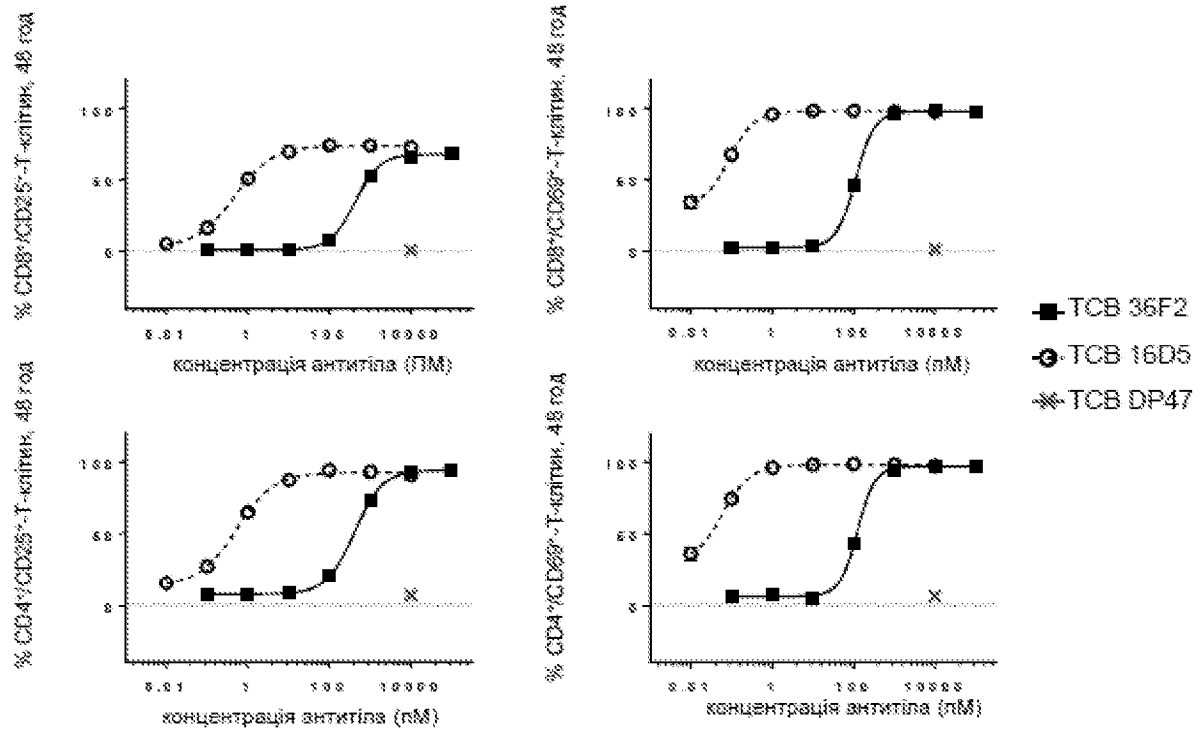


Фіг. 23Б

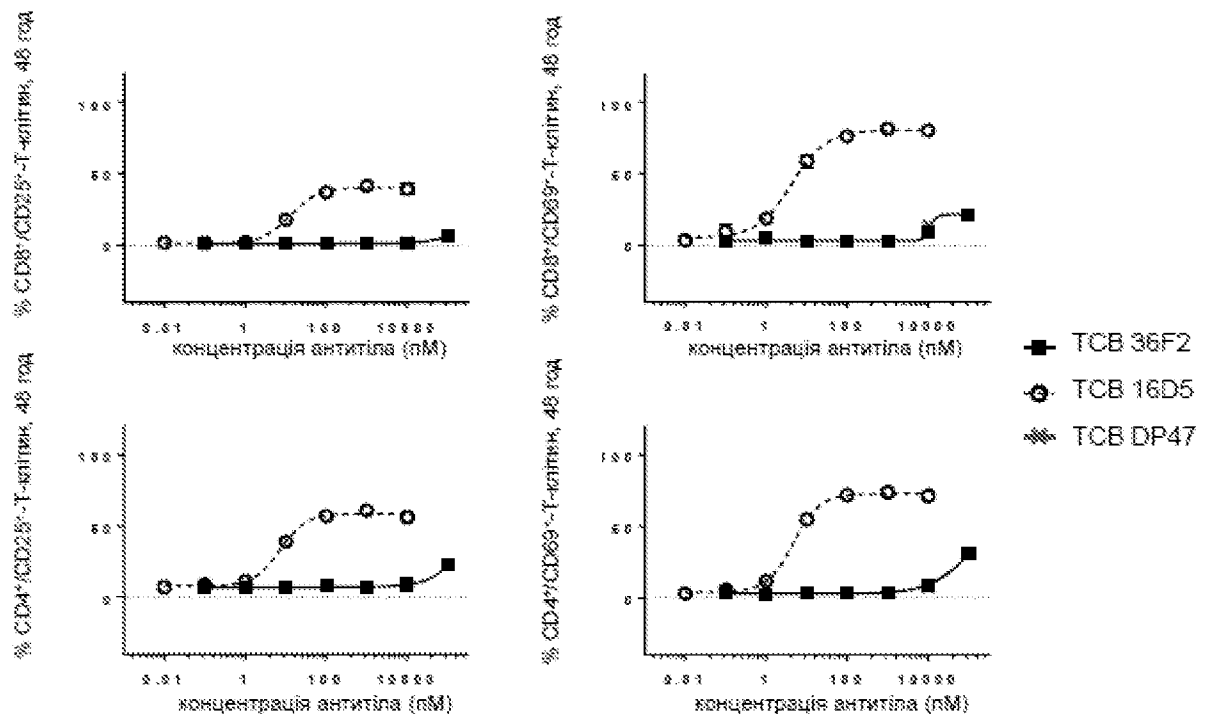
■ TCB 36F2
● TCB Mov19
◆ TCB 21A5



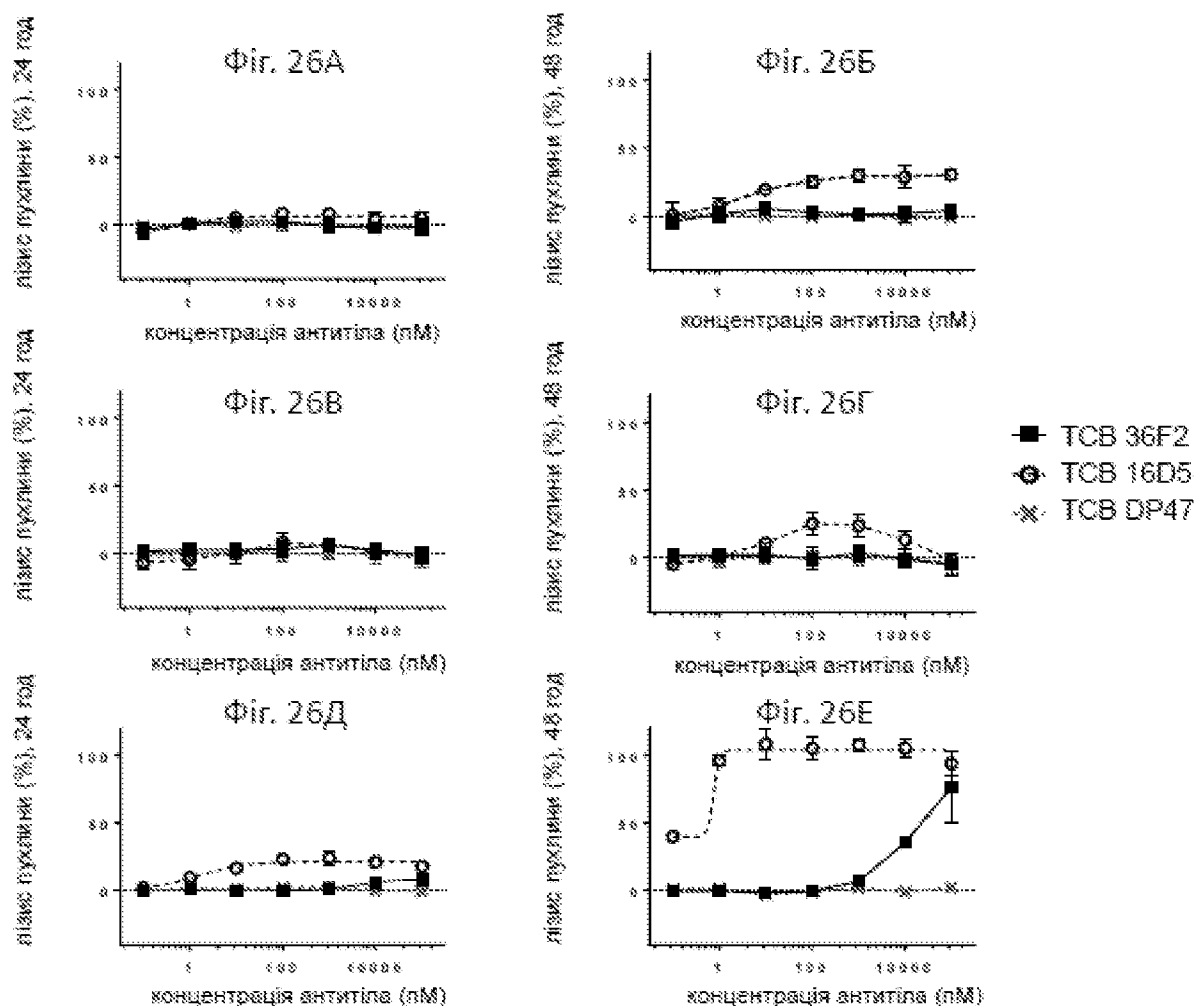
Фіг. 25А



Фіг. 25Б

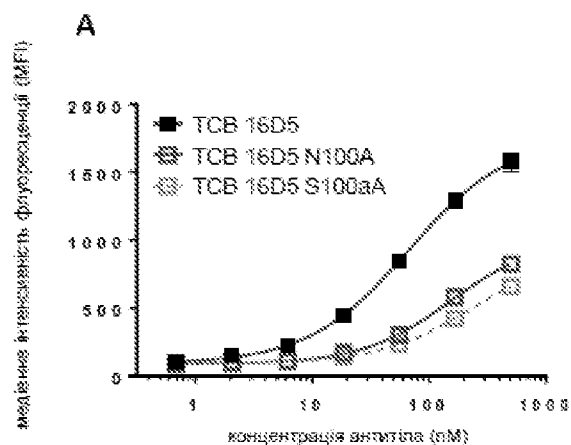


Фіг. 25В

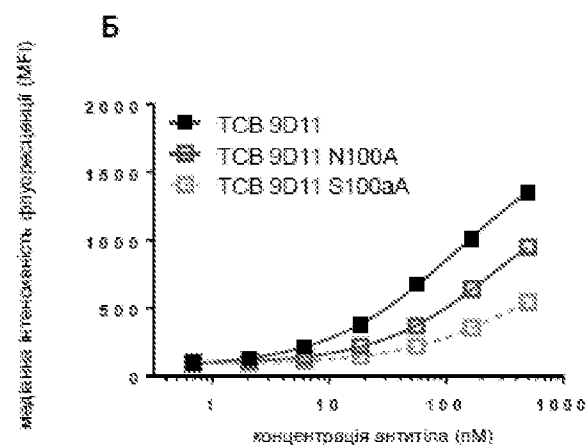


Лінія клітин	Сайти зв'язування	Лінія клітин	Сайти зв'язування
HeLa	2'240'716	бронхіальний епітелій	492
Skov3	91'510	епітелій хоріоїдального сплетення	104
OVCAR5	22'077	нирковий кортикальний епітелій	312
HT29	10'135	ретинальний пігментний епітелій	822
MKN45	54	Skov3	69'890

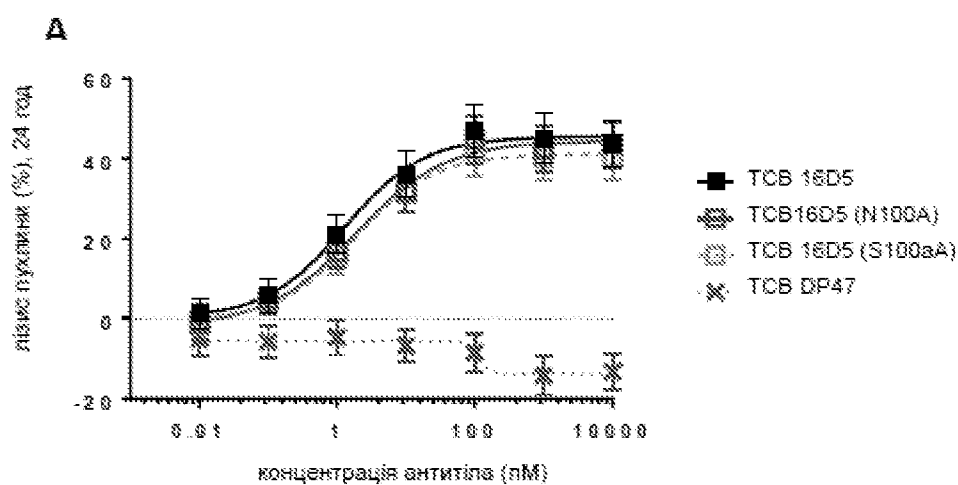
Фіг. 27



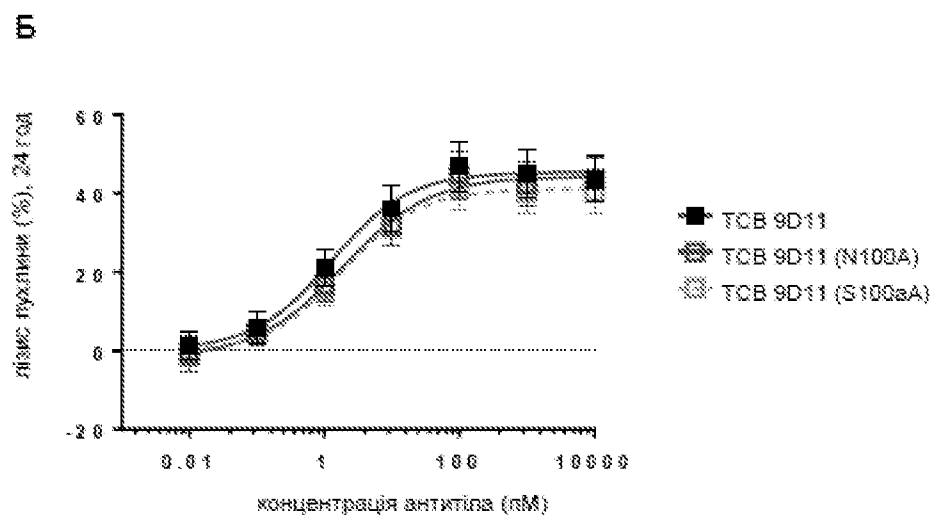
Фіг. 28А



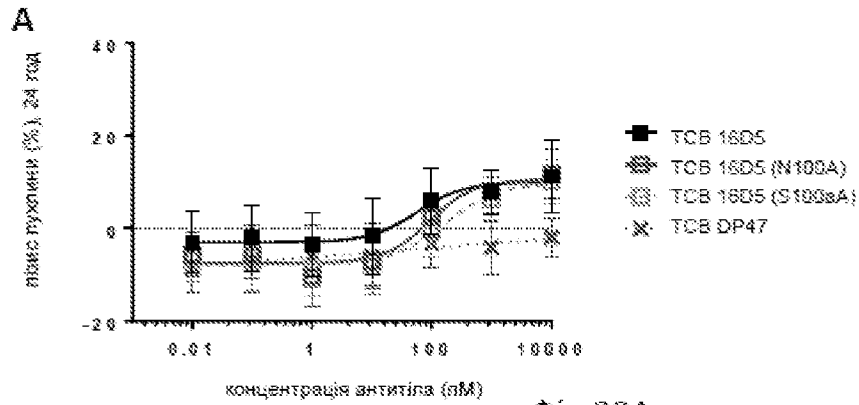
Фіг. 28Б



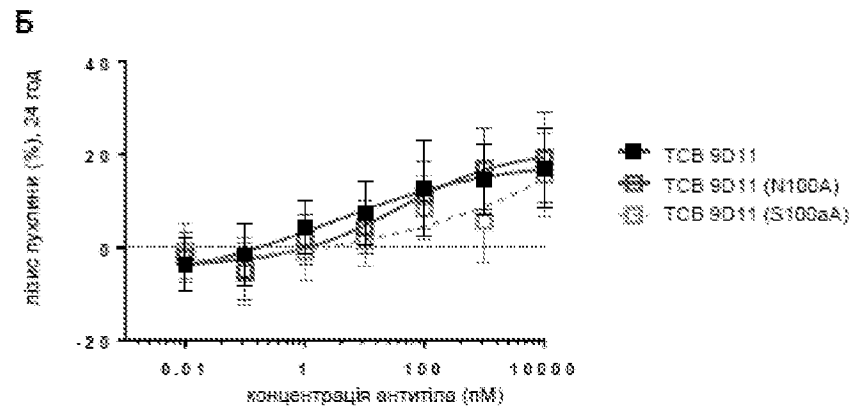
Фіг. 29А



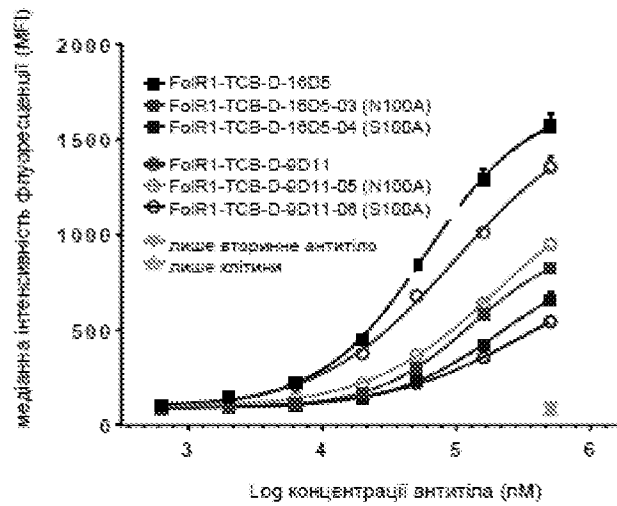
Фіг. 29Б



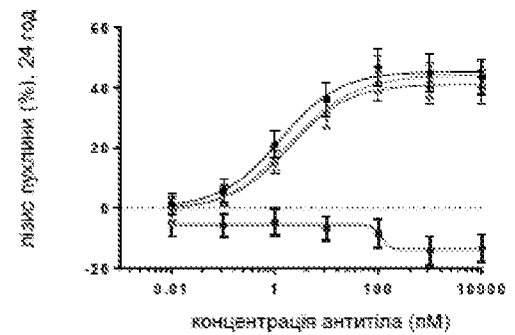
Фіг. 30А



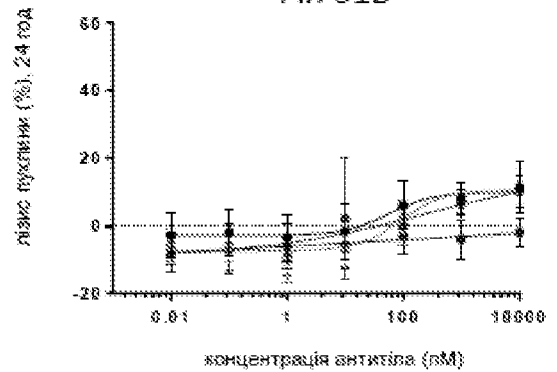
Фіг. 30Б



Фіг. 31А

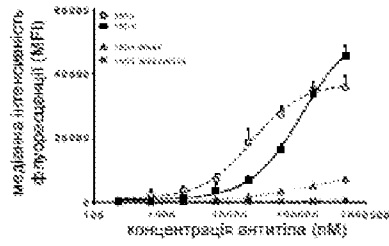


Фіг. 31Б

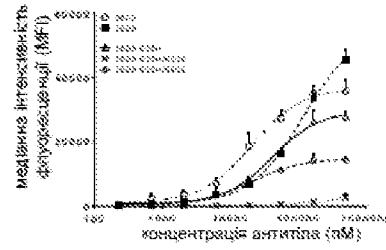


Фіг. 31В

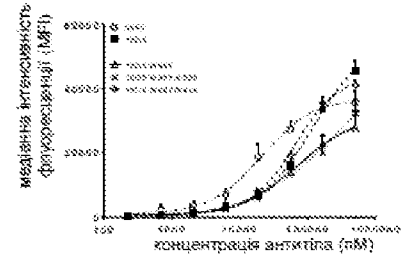
Фіг. 32А



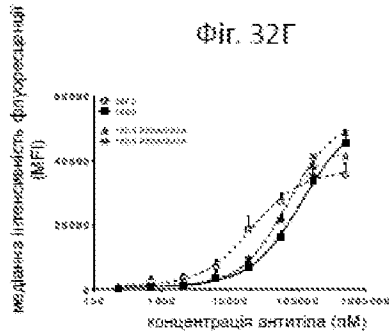
Фіг. 32Б



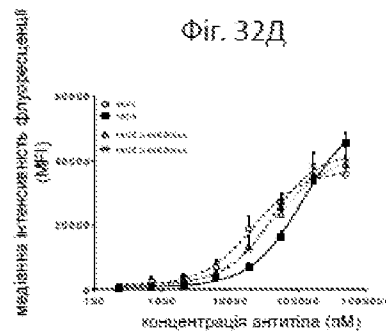
Фіг. 32В



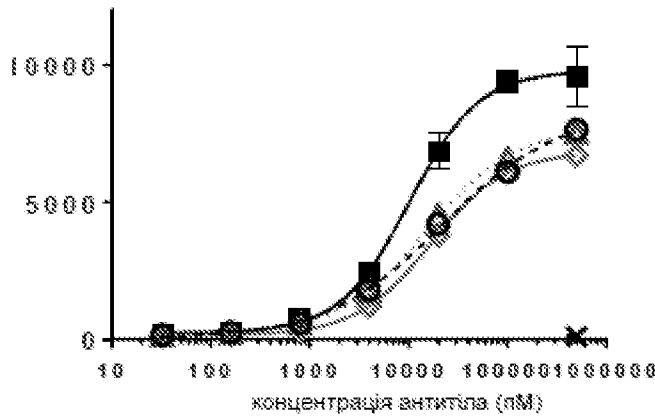
Фіг. 32Г



Фіг. 32Д



медіана інтенсивність флуоресценції



■ TCB 16D5

● TCB 36F2

◆ TCB 16D5 W96Y/D52E

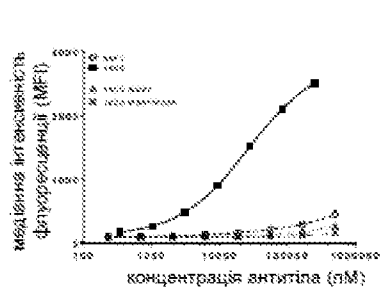
▲ TCB 16D5-G49S/S93A

— лише клітини

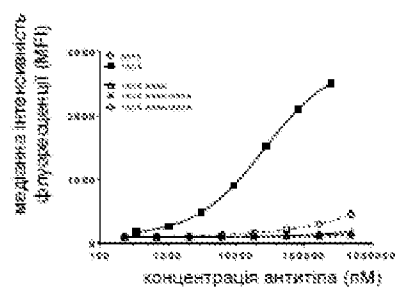
* лише вторинне антитіло

Фіг. 33

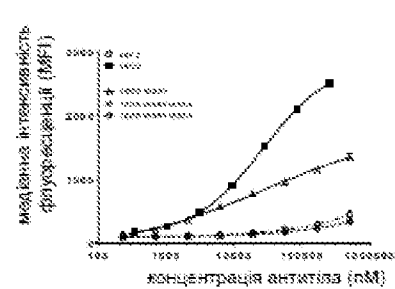
Фіг. 34А



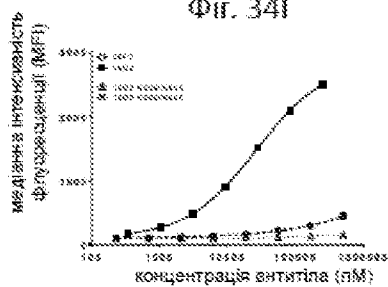
Фіг. 34Б



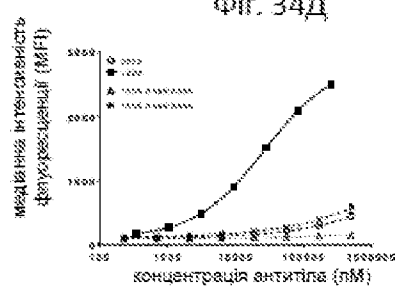
Фіг. 34В



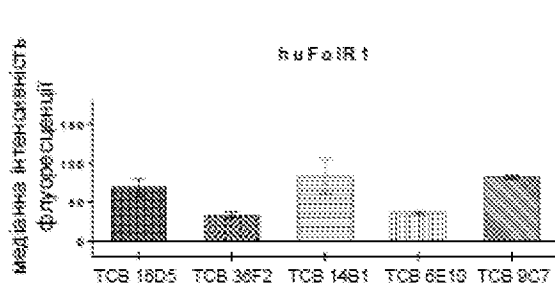
Фіг. 34Г



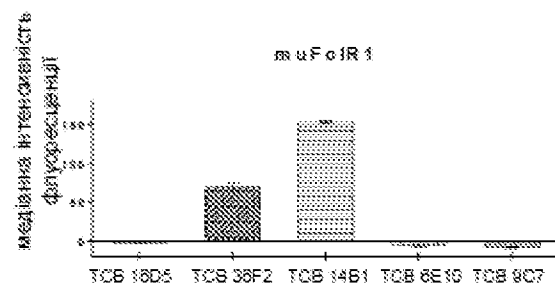
Фіг. 34Д



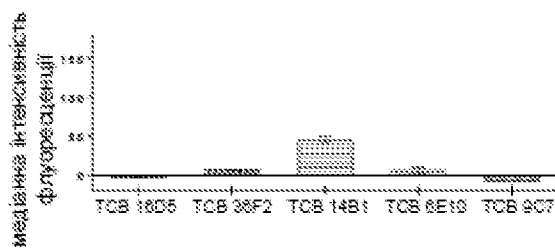
Фіг. 35А



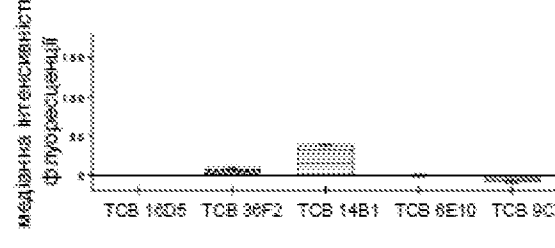
Фіг. 35Б



huFcR2



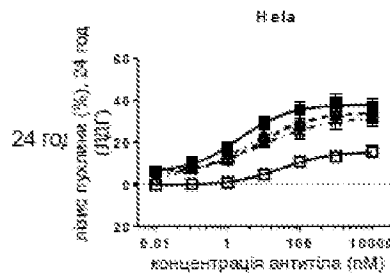
muFcR2



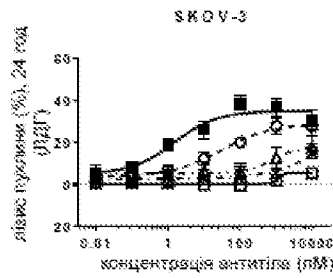
Фіг. 35В

Фіг. 35Г

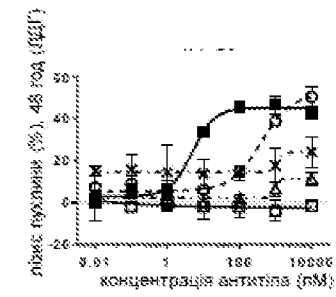
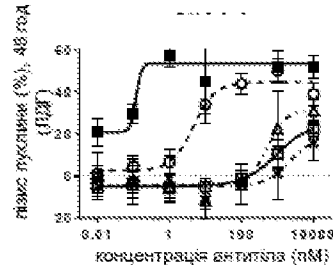
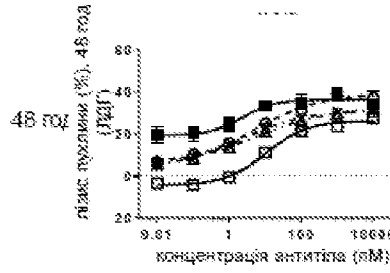
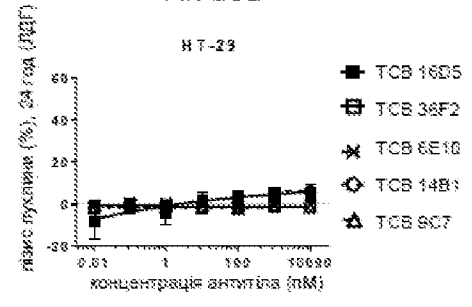
Фіг. 36А



Фіг. 36Б



Фіг. 36В

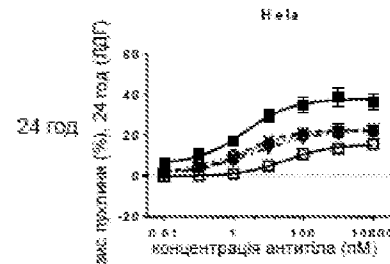


Фіг. 36Г

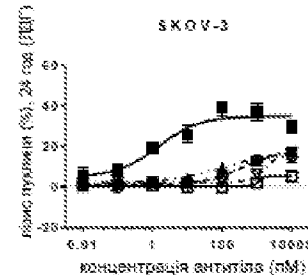
Фіг. 36Д

Фіг. 36Е

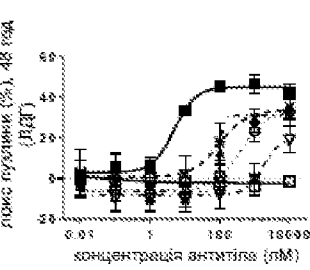
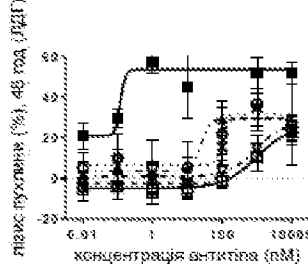
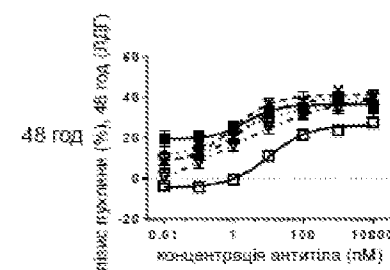
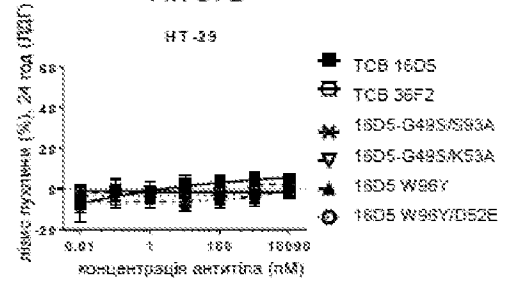
Фіг. 37А



Фіг. 37Б



Фіг. 37В



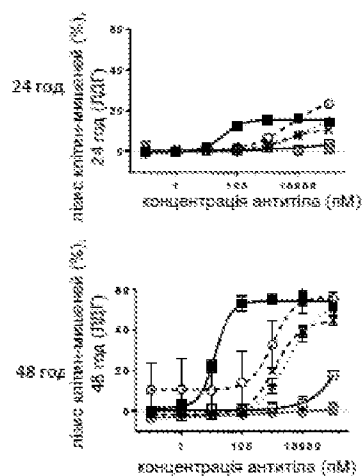
Фіг. 37Г

Фіг. 37Д

Фіг. 37Е

Фіг. 38А

HT-29

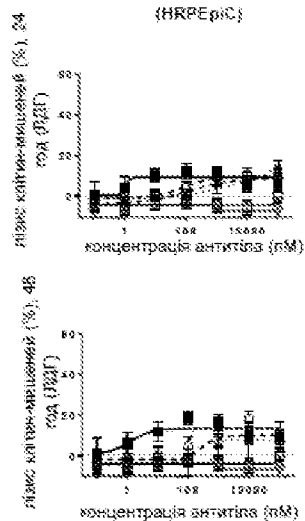


Фіг. 38Г

Фіг. 38Б

клітини ретинального
пігментного епітелію

(HRCEpiC)

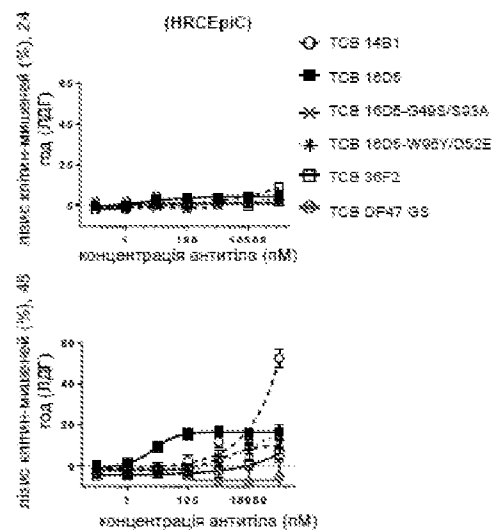


Фіг. 38Д

Фіг. 38В

клітини кортикального
ниркового епітелію

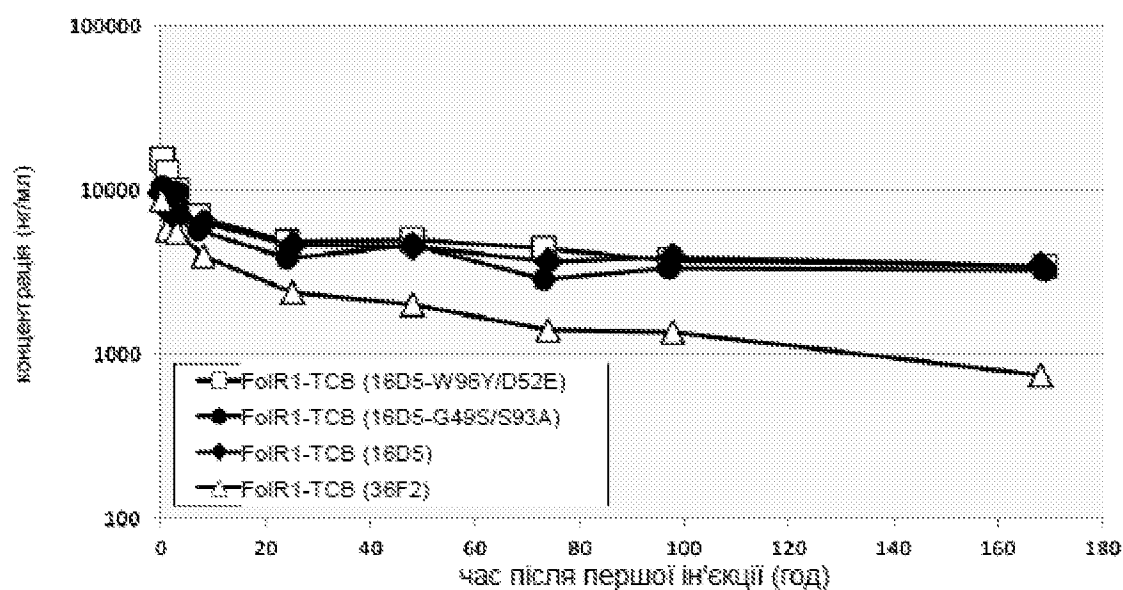
(HRCEpiC)



Фіг. 38Е

Група	Конструкція	Мишиний штам	Вухмиша	Доза (мг/кг)	Зв'язувальний агент	час напівжиття (дні)	Стах (мкг/мл)
А	FOIR1-TCB (клон: 16D5 W96Y/D52E)	NOG	нема	0,5	16D5 W96Y/D52E	10,6	16
Б	FOIR1-TCB (клон: 16D5 G49S/S93A)	NOG	нема	0,5	16D5 G49S/S93A	4,35	11
В	FOIR1-TCB (клон: 16D5)	NOG	нема	0,5	16D5	13,6	10
Г	FOIR1-TCB (клон: 36F2)	NOG	нема	0,5	36F2	3,6	9

Фіг. 39А

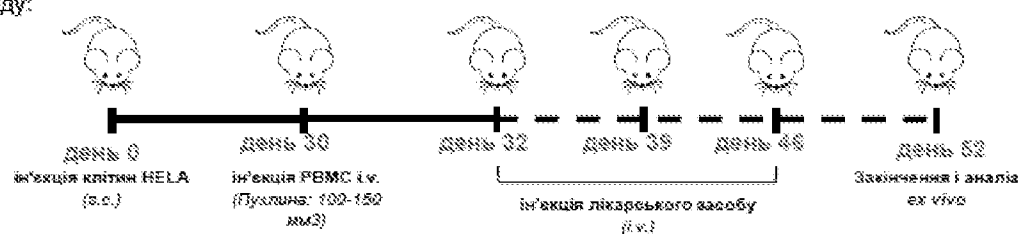


Фіг. 39Б

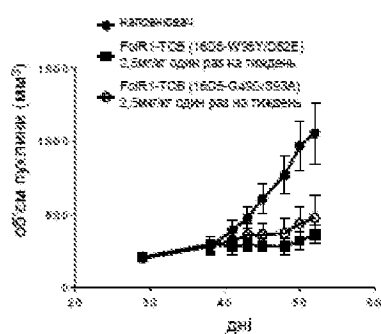
Група	Конструкція	Ін'єкція PBMC (день 30)	Пухлина (с.с.)	Початок обробки	Доза (мг/кг)	Графік
А	наповнювач	10×10^6	HELA	день 32	—	Один раз на тиждень
Б	FOLR1-TCB (клон: 16D5)	10×10^6	HELA	день 32	0.5	Один раз на тиждень
В	FOLR1-TCB (клон: 16D5 W96Y/D52E)	10×10^6	HELA	день 32	2.5	Один раз на тиждень
Г	FOLR1-TCB (клон: 16D5 W96Y/D52E)	10×10^6	HELA	день 32	0.5	Один раз на тиждень
Д	FOLR1-TCB (клон: 16D5 G49S/593A)	10×10^6	HELA	день 32	2.5	Один раз на тиждень
Е	FOLR1-TCB (клон: 16D5 G49S/593A)	10×10^6	HELA	день 32	0.5	Один раз на тиждень

Фіг. 40А

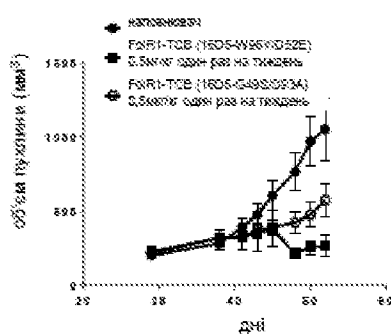
Протокол
досліді:



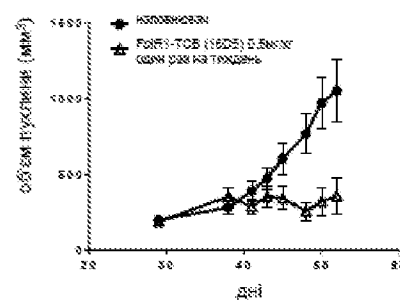
Фіг. 40Б



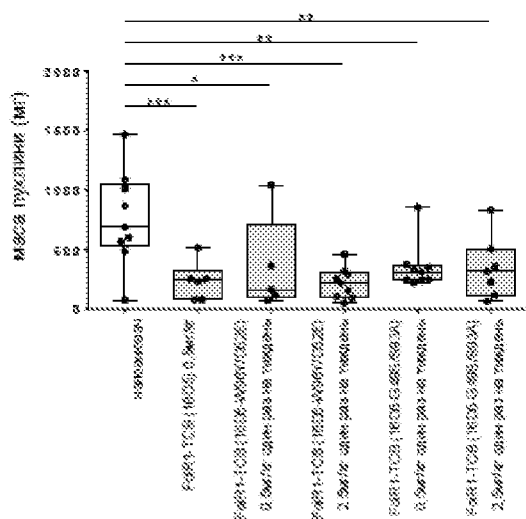
Фіг. 40В



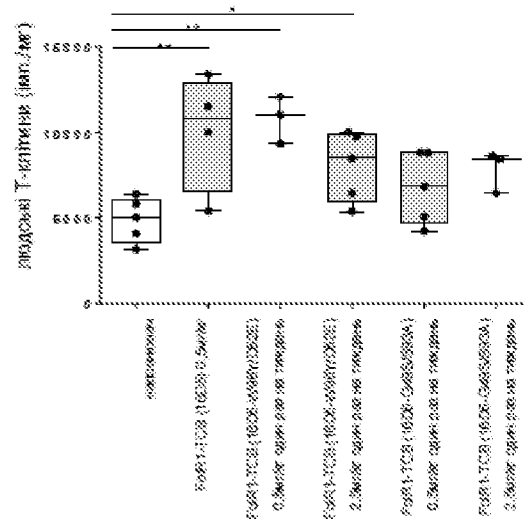
Фіг. 40Г



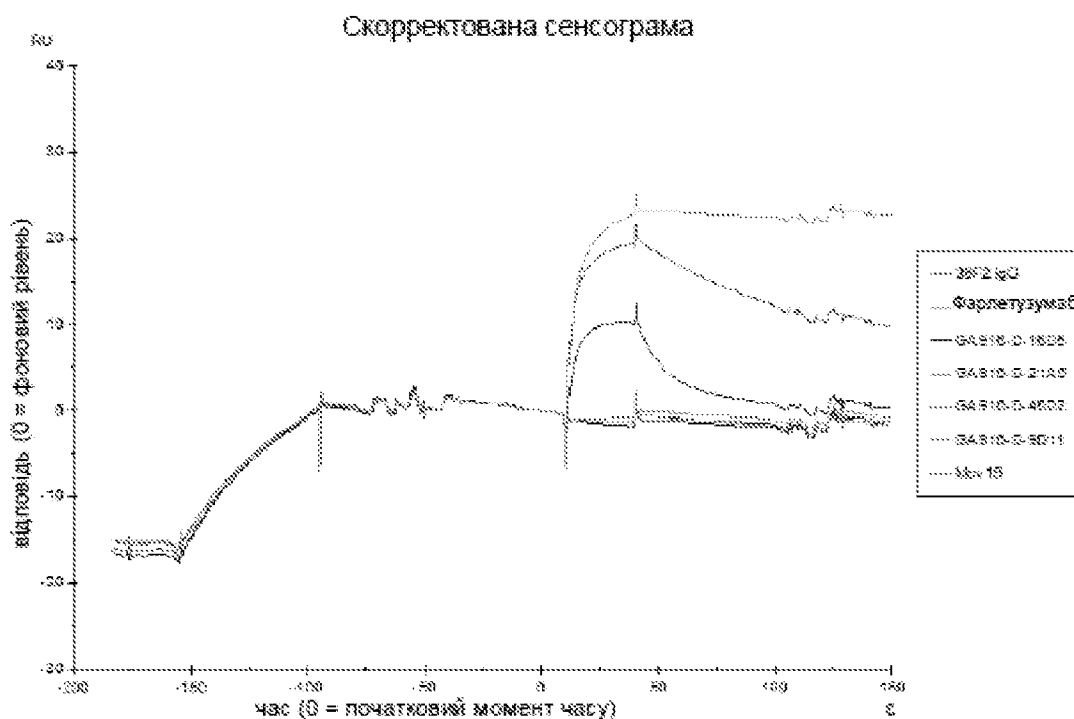
Фіг. 40Д



Фіг. 40Е



Фіг. 40Ж



Фіг. 41