РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 765 242**(13) **C2**

(51) МПК
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C07K 16/2803 *(2021.08);* ***C07K 16/30*** *(2021.08);* ***A61K 39/395*** *(2021.08);* ***C07K 2317/53*** *(2021.08);* ***C07K 2317/622*** *(2021.08);* ***A61K 2039/505*** *(2021.08)*

(21)(22) Заявка: **2018105374, 04.08.2016**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.08.2016

Дата регистрации:
27.01.2022

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
07.08.2015 US 62/202,665

(43) Дата публикации заявки: **09.09.2019** Бюл. № **25**

(45) Опубликовано: **27.01.2022** Бюл. № **3**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **07.03.2018**

(86) Заявка PCT:
US 2016/045580 (04.08.2016)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2017/027325 (16.02.2017)

Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, БОКС-1125

(72) Автор(ы):
ЧАН Чио Муй (US),
ГУДАС Жан (US),
ОЛАФСЕН Туве (US),
САТПАЕВ Даулет Кадыл (US),
ТОРГОВ Михаил Юрий (US)

(73) Патентообладатель(и):
ИМАДЖИНАБ, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 99/15549 A2, 01.04.1999. WO 2012/022982 A2, 23.02.2012. WO 2014/145016 A2, 18.09.2014. US 2014/286951 A1, 25.09.2014. US 2006/134105 A1, 22.06.2006. OLAFSEN T. et al., Generation of single-chain Fv fragments and multivalent derivatives scFv-Fc and scFv-CH3 (minibodies). Antibody engineering. Springer, Berlin, Heidelberg, 2010, p.69-84.** (см. прод.)

(54) АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ КОНСТРУКЦИИ ПРОТИВ МОЛЕКУЛ-МИШЕНЕЙ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к биотехнологии и иммунологии, в частности к шарнирным структурам в антигенсвязывающих конструкциях. Предложена аминокислотная шарнирная область, содержащая EPKSSDKTHTCPPCPPC. Также предложена аминокислотная шарнирная область, содержащая центральную шарнирную последовательность CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к верхней шарнирной последовательности ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48) или EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46). Указанные шарнирные области находятся в мини-антителах, которые связываются с молекулой-мишенью. Мини-антитела в составе композиции могут применяться для диагностической визуализации или доставки полезной терапевтической нагрузки. Изобретения обеспечивают улучшенную конструкцию мини-антитела, содержащего указанную шарнирную область, позволяют улучшить стабильность и/или снизить агрегацию мини-антител, снизить уровень полумолекул до менее 1%. 6 н. и 19 з.п. ф-лы, 80 ил., 8 табл., 25 пр.

RU 2765242 C2

RU 2765242 C2

(56) (продолжение):
RODRIGUES, M. L., et al. Engineering Fab' fragments for efficient F(ab)2 formation in Escherichia coli and for improved in vivo stability. The Journal of Immunology, 1993, v.151, no.12, p.6954-6961. HU, Shi-zhen, et al. "Minibody: a novel engineered anti-carcinoembryonic antigen antibody fragment (single-chain Fv-CH3) which exhibits rapid, high-level targeting of xenografts." Cancer research, 1996, v.56, no.1, p.3055-3061. ANGAL S. et al. A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody. Molecular Immunology, 1993, 30(1), p.105-108. doi:10.1016/0161-5890(93)90432-b. ЯРИЛИН А.А., "Основы иммунологии", М.: Медицина, 1999, с.176-177.

RU 2765242 C2

RU 2765242 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 765 242**(13) **C2**

(51) Int. Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C07K 16/2803 *(2021.08);* ***C07K 16/30*** *(2021.08);* ***A61K 39/395*** *(2021.08);* ***C07K 2317/53*** *(2021.08);* ***C07K 2317/622*** *(2021.08);* ***A61K 2039/505*** *(2021.08)*

(21)(22) Application: **2018105374, 04.08.2016**

(24) Effective date for property rights:
04.08.2016

Registration date:
27.01.2022

Priority:
(30) Convention priority:
07.08.2015 US 62/202,665

(43) Application published: **09.09.2019** Bull. № **25**

(45) Date of publication: **27.01.2022** Bull. № **3**

(85) Commencement of national phase: **07.03.2018**

(86) PCT application:
US 2016/045580 (04.08.2016)

(87) PCT publication:
WO 2017/027325 (16.02.2017)

Mail address:
190000, Sankt-Peterburg, BOKS-1125

(72) Inventor(s):
CHAN Chio Muj (US),
GUDAS Zhan (US),
OLAFSEN Tuve (US),
SATPAEV Daulet Kadyl (US),
TORGOV Mikhail Yurij (US)

(73) Proprietor(s):
IMADZHINAB, INK. (US)

RU 2765242 C2

RU 2765242 C2

(54) ANTIGEN-BINDING CONSTRUCTS AGAINST TARGET MOLECULES

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE group of inventions relates to biotechnology and immunology, in particular, to hinge structures in antigen-binding constructs. Proposed is an amino acid hinge region containing EPKSSDKTHTCPPCPPC. Also proposed is an amino acid hinge region containing the central hinge sequence CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) or CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54) attached to the upper hinge sequence ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48) or EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46). The above hinge regions are located in mini-antibodies binding to the target molecule. The mini-antibodies contained in the composition can be applied for diagnostic visualisation or delivery of a therapeutic payload.

EFFECT: inventions provide an improved construct of a mini-antibody containing the described hinge region, provide a possibility of improving the stability and/or reducing the aggregation of mini-antibodies, reducing the level of half-molecules to less than 1%.

25 cl, 80 dwg, 8 tbl, 25 ex

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки США №62/202,665, поданной 7 августа 2015 года, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка подается вместе с перечнем последовательностей в электронном формате. Перечень последовательностей представлен в виде файла под именем IGNAB030WOSEQUENCE.TXT, который был создан и последний раз изменен 3 августа 2016 года, размер которого составляет 270446 байт. Информация из электронного перечня последовательностей полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Варианты реализации, описанные в настоящем документе, в общем смысле относятся к шарнирным структурам в антигенсвязывающих конструкциях (таких как любые слитые белки scFv, такие как миниантитела), а также к антигенсвязывающим конструкциям самим по себе, а также к способам их применения.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Существует широкий спектр антигенсвязывающих конструкций, известных в данной области техники. Последовательности таких конструкций часто варьируют в участках CDR (участки, определяющие комплементарность); вариации в каркасных участках и в других частях антител (таких как C_H3 и шарнирные области) являются менее частыми.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Согласно некоторым аспектам предложена аминокислотная шарнирная область, содержащая последовательность SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$). Xn_1 может представлять собой любую аминокислоту, которая в природе не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи. X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V. X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту.

[0006] Согласно некоторым аспектам X_{n1} не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой аминокислотой (SEQ ID NO: 191). Согласно некоторым аспектам X_{n1} не представляет собой цистеин (SEQ ID NO: 192). Согласно некоторым аспектам X_{n1} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V (SEQ ID NO: 193). Согласно некоторым аспектам X_{n2} представляет собой P, V или E (SEQ ID NO: 194). Согласно некоторым аспектам X_{n2} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 195). Согласно некоторым аспектам X_{n4} представляет собой P, V или E (SEQ ID NO: 196). Согласно некоторым аспектам X_{n4} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 197). Согласно некоторым аспектам X_{n3} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 198). Согласно некоторым аспектам X_{n5} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 199). Согласно некоторым аспектам X_{n3} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 200). Согласно некоторым аспектам $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE (SEQ ID NO: 201). Согласно некоторым аспектам $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой PP (SEQ ID NO: 202). Согласно некоторым аспектам $X_{n4}X_{n5}$

представляет собой VE (SEQ ID NO: 203). Согласно некоторым аспектам $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой PP (SEQ ID NO: 204). Согласно некоторым аспектам $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE, и $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой PP (SEQ ID NO: 205). Согласно некоторым аспектам $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой PP, и $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой PP или VE (SEQ ID NO: 206). Согласно некоторым аспектам $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE, и $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой VE или PP (SEQ ID NO: 207). Согласно некоторым аспектам шарнир дополнительно содержит удлиняющую или нижнюю шарнирную последовательность, С-концевую относительно последнего цистеина в $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (SEQ ID NO: 1). Согласно некоторым аспектам удлиняющая или нижняя шарнирная последовательность содержит по меньшей мере одну аминокислоту из S, G, A, P или V. Согласно некоторым аспектам удлиняющая последовательность содержит по меньшей мере GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59). Согласно некоторым аспектам линкерная последовательность содержит по меньшей мере APPVAGP (SEQ ID NO: 60). Согласно некоторым аспектам шарнирная область по п. 1 является частью центральной (коровой) шарнирной области. Согласно некоторым аспектам шарнир дополнительно содержит верхнюю шарнирную область, примыкающую к центральной шарнирной области. Согласно некоторым аспектам шарнир дополнительно содержит нижнюю шарнирную область или удлиняющую область, примыкающую к центральной шарнирной области. Согласно некоторым аспектам шарнир дополнительно содержит верхнюю шарнирную область, примыкающую к центральной шарнирной области. Согласно некоторым аспектам X_{n1} содержит серии, треонин или аланин (SEQ ID NO: 209). Согласно некоторым аспектам X_{n1} содержит серии (SEQ ID NO: 210). Согласно некоторым аспектам X_{n1} содержит аланин (SEQ ID NO: 211). Согласно некоторым аспектам аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56) или TCPPCPPC (SEQ ID NO: 166). Согласно некоторым аспектам аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: ERKSCVECPPCP (SEQ ID NO: 167), EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46) и CPPCPPC (SEQ ID NO: 52). Согласно некоторым аспектам аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34), или ERKSCVECPPCPAPPVAGP (SEQ ID NO: 33), или EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26), или EPKSSDKTHTCPPCPPCAPELLGGP (SEQ ID NO: 25).

[0007] Согласно некоторым аспектам предложена аминокислотная шарнирная область. Аминокислотная шарнирная область содержит последовательность SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$). X_{n1} может представлять собой любые m аминокислот (где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа). X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, отличную от цистеина. X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (см., например, SEQ ID NO: 212). Согласно некоторым аспектам X_{n1} не

представляет собой цистеин (см., например, SEQ ID NO: 213). Согласно некоторым аспектам X_{n2} не представляет собой цистеин (см., например, SEQ ID NO: 214). Согласно некоторым аспектам X_{n2} представляет собой D (см., например, SEQ ID NO: 215). Согласно некоторым аспектам X_{n3} представляет собой K (см., например, SEQ ID NO: 216). Согласно некоторым аспектам X_{n4} представляет собой T (см., например, SEQ ID NO: 217). Согласно некоторым аспектам X_{n5} представляет собой H (см., например, SEQ ID NO: 218). Согласно некоторым аспектам X_{n6} представляет собой T (см., например, SEQ ID NO: 219). Согласно некоторым аспектам X_{n7} представляет собой P или V (см., например, SEQ ID NO: 220). Согласно некоторым аспектам X_{n8} представляет собой P или E (см., например, SEQ ID NO: 221). Согласно некоторым аспектам X_{n9} представляет собой P или V (см., например, SEQ ID NO: 222). Согласно некоторым аспектам X_{n10} представляет собой P или E (см., например, SEQ ID NO: 223). Согласно некоторым аспектам аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит мотив CXXC (см., например, SEQ ID NO: 224) или CXXC (см., например, SEQ ID NO: 225), который расположен перед X_{n1}. Согласно некоторым аспектам аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит последовательность $X_{n11}X_{n12}C$, непосредственно присоединенную к C-концевому цистеину в SEQ ID NO: 2, где X_{n11} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n12} может представлять собой любую аминокислоту (см., например, SEQ ID NO: 226). Согласно некоторым аспектам X_{n11} представляет собой P или V, и X_{n12} представляет собой P или E (см., например, SEQ ID NO: 227). Согласно некоторым аспектам X_{n1} представляет собой серии, X_{n2} представляет собой D, X_{n3} представляет собой K, X_{n4} представляет собой T, X_{n5} представляет собой H, X_{n6} представляет собой T, X_{n7} представляет собой P, X_{n8} представляет собой P, X_{n9} представляет собой P, и X_{n10} представляет собой P (см., например, SEQ ID NO: 228). Согласно некоторым аспектам шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: CPPCPPC (SEQ ID NO: 52), CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54). Согласно некоторым аспектам шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: EPKSSDKTHTCPPCPPC (SEQ ID NO: 168), EPKSSDKTHTCPPCVECPPC (SEQ ID NO: 169) или EPKSSDKTHTCPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 170). Согласно некоторым аспектам шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26), EPKSSDKTHTCPPCVECPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 28) или EPKSSDKTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 30).

[0008] Согласно некоторым аспектам предложена аминокислотная шарнирная область. Шарнирная область содержит центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ ID NO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), или CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53), присоединенную к последовательности верхнего шарнира ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48) или EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46).

[0009] Согласно некоторым аспектам предложена аминокислотная шарнирная область для антитела, причем данная область может содержать верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой; и центральную шарнирную область, присоединенную

к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на цепь. Согласно некоторым аспектам аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит нижнюю шарнирную область или удлиняющую область, присоединенную с С-конца к центральной шарнирной области, причем нижняя шарнирная последовательность или удлиняющая последовательность представляет собой по меньшей мере одну последовательность из: APPVAGP (SEQ ID NO: 60), APELLGGP (SEQ ID NO: 58) и/или GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59). Согласно некоторым аспектам верхняя шарнирная область не содержит цистеинов, которые образуют поперечные сшивки с верхней шарнирной областью. Согласно некоторым аспектам верхняя шарнирная область не содержит цистеинов. Согласно некоторым аспектам данная область дополнительно содержит нижнюю шарнирную область или удлиняющую область. Согласно некоторым аспектам нижняя шарнирная область или удлиняющая область содержит по меньшей мере одну последовательность из: GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59) или APPVAGP (SEQ ID NO: 60), или APELLGGP (SEQ ID NO: 58). Согласно некоторым аспектам при расположении в миниантителе, и когда миниантитело вводят субъекту-человеку, миниантитело выводится из организма субъекта преимущественно через печень. Согласно некоторым аспектам при расположении в миниантителе, и когда миниантитело вводят субъекту-человеку, миниантитело не выводится из организма субъекта преимущественно через через почки. Согласно некоторым аспектам шарнирная область находится в антителе. Согласно некоторым аспектам шарнирная область находится в связывающем фрагменте антитела. Согласно некоторым аспектам шарнирная область находится в миниантителе. Согласно некоторым аспектам шарнирная область находится в моноспецифичном антителе. Согласно некоторым аспектам шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на цепь. Согласно некоторым аспектам шарнирная область содержит по меньшей мере четыре цистеина на цепь. Согласно некоторым аспектам шарнирная область содержит по меньшей мере пять цистеинов на цепь. Согласно некоторым аспектам цистеины распределены на протяжении аминокислотной шарнирной области в повторяющемся мотиве CXX или CXY. Согласно некоторым аспектам шарнирная область находится в биспецифичном антителе. Согласно некоторым аспектам биспецифичное антитело сконструировано в соотношении 1:1. Согласно некоторым аспектам биспецифичное антитело содержит фрагмент антитела. Согласно некоторым аспектам биспецифичное антитело представляет собой миниантитело.

[0010] Согласно некоторым аспектам предложена фармацевтическая композиция. Фармацевтическая композиция может содержать аминокислотную шарнирную область согласно любой из таковых, раскрытых в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данный подход приводит к тому, что в композиции наблюдается менее 5% агрегации антитела.

[0011] Согласно некоторым аспектам предложена фармацевтическая композиция, содержащая аминокислотную шарнирную область согласно любой из таковых, раскрытых в настоящем документе. Согласно некоторым аспектам присутствует по меньшей мере от 1 микрограмма до 100 мг антитела.

[0012] Согласно некоторым аспектам предложено миниантитело, содержащее центральную шарнирную область. Центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на цепь, образующих по меньшей мере три дисульфидные связи в центральной шарнирной области. Согласно некоторым аспектам первый остаток центральной области представляет собой серии. Согласно некоторым аспектам центральная шарнирная область содержит SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56).

[0013] Согласно некоторым аспектам предложено миниантитело. Миниантитело может содержать последовательность $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (SEQ ID NO: 3). Данная последовательность может быть расположена в виде центральной шарнирной области миниантитела. X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту или отсутствие аминокислоты. X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту. Согласно некоторым аспектам X_{n1} представляет собой любую аминокислоту, отличную от цистеина (SEQ ID NO: 229). Согласно некоторым аспектам X_{n1} представляет собой серии (SEQ ID NO: 230).

[0014] Согласно некоторым аспектам предложен вариант шарнира миниантитела. Вариант шарнира может содержать первое измененное положение аминокислоты. Первое измененное положение представляет собой аминокислоту, которая в шарнире нативного антитела представляла бы собой цистеин, и была изменена в первом измененном положении так, что она не образует дисульфидной связи. Вариант шарнира может также содержать по меньшей мере три цистеина на цепь, С-концевых относительно первого измененного положения аминокислоты. Согласно некоторым аспектам шарнирная область состоит из SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым аспектам SEQ ID NO: 1 представляет собой центральную шарнирную область, и причем центральная шарнирная область по существу состоит из SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым аспектам центральная шарнирная область состоит из SEQ ID NO: 1.

[0015] Согласно некоторым аспектам предложено миниантитело. Миниантитело связывается с антигеном-мишенью, причем антиген-мишень представляет собой по меньшей мере один антиген из CD3, CD8, 5T4, ПСМА (простатический специфический мембранный антиген) или АСКП (антиген стволовых клеток предстательной железы). Миниантитело содержит полипептид, содержащий: одноцепочечный вариабельный фрагмент (single-chain variable fragment, scFv), который связывается с антигеном-мишенью, причем scFv содержит вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L); и вариант шарнирной области, содержащий по меньшей мере три цистеина на каждой цепи шарнира.

[0016] Согласно некоторым аспектам миниантитело дополнительно содержит последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым аспектам миниантитело дополнительно содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы.

[0017] Согласно некоторым аспектам миниантитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1, раскрытому в настоящем документе; HCDR2 согласно HCDR2, раскрытому в настоящем документе; HCDR3 согласно HCDR3, раскрытому в настоящем документе; LCDR1 согласно LCDR1, раскрытому в настоящем документе; LCDR2 согласно LCDR2, раскрытому в настоящем документе; и LCDR3 согласно LCDR3, раскрытому в настоящем документе.

[0018] Согласно некоторым аспектам вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L) представляют собой последовательности человека.

[0019] Согласно некоторым аспектам предложена нуклеиновая кислота, кодирующая миниантитело, раскрытое в настоящем документе.

[0020] Согласно некоторым аспектам предложена линия клеток, продуцирующая миниантитело, раскрытое в настоящем документе.

[0021] Согласно некоторым аспектам предложен набор, содержащий любое из миниантител, описанных в настоящем документе, и поддающийся обнаружению маркер.

[0022] Согласно некоторым аспектам предложен способ обнаружения присутствия или отсутствия антигена-мишени. Антиген-мишень представляет собой по меньшей мере один антиген из CD3, CD8, 5T4, ПСМА или АСКП. Способ включает применение миниантитела, раскрытого в настоящем документе, в отношении образца; и обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции указанного миниантитела с антигеном-мишенью.

[0023] Согласно некоторым аспектам миниантитело содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы. Согласно некоторым аспектам применение миниантитела включает введение миниантитела субъекту. Согласно некоторым аспектам обнаружение связывания или отсутствия связывания миниантитела с антигеном-мишенью включает позитронно-эмиссионную томографию. Согласно некоторым аспектам способ также включает применение вторичного антитела или его фрагмента в отношении образца, причем вторичное антитело или его фрагмент специфично связывается с миниантителом. Согласно некоторым аспектам миниантитело инкубируют с образцом в течение не более 1 часа.

[0024] Согласно некоторым аспектам предложен способ нацеливания терапевтического средства на антиген-мишень. Антиген-мишень представляет собой по меньшей мере один антиген из CD3, CD8, 5T4, ПСМА или АСКП. Способ включает введение субъекту миниантитела, раскрытого в настоящем документе, причем миниантитело конъюгировано с терапевтическим средством.

[0025] Согласно некоторым аспектам предложен способ нейтрализации клетки B- или T-лимфоцита у субъекта, который нуждается в такой нейтрализации. Способ включает введение субъекту миниантитела, раскрытого в настоящем документе, которое связывается с CD8 и/или CD3. Согласно некоторым аспектам субъект страдает от по меньшей мере одного из нарушений, указанных в настоящем документе.

[0026] Согласно некоторым аспектам предложено антитело и/или миниантитело, которое связывается с антигеном-мишенью (таким как CD8, CD3, 5T4, ПСМА, АСКП). Антитело и/или миниантитело содержит шарнирную область, причем шарнирная область содержит по меньшей мере один элемент из следующих:

a) аминокислотную шарнирную область, содержащую последовательность SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая в природе не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи, где X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту;

b) аминокислотную шарнирную область, содержащую последовательность SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любые m аминокислот (где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа), где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может

представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, отличную от цистеина, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту;

c) центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ ID NO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52), или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), или CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53), присоединенную к последовательности верхнего шарнира ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48) или EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46);

d) верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой; и центральную шарнирную область, присоединенную к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на цепь;

e) антитело и/или миниантитело, содержащее центральную шарнирную область, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на цепь, образующих по меньшей мере три дисульфидные связи в центральной шарнирной области; или

f) первое измененное положение аминокислоты, причем первое измененное положение представляет собой аминокислоту, которая в шарнире нативного антитела представляла бы собой цистеин, и была изменена в первом измененном положении так, что она не образует дисульфидной связи; и по меньшей мере три цистеина на цепь, С-концевых относительно первого измененного положения аминокислоты.

[0027] Согласно некоторым аспектам любое миниантитело согласно настоящему документу может быть вместо этого представлено в формате полноразмерного антитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит гуманизированную аминокислотную последовательность.

[0028] Согласно некоторым аспектам способ получения миниантитела, описанный в настоящем документе, включает экспрессию миниантитела в линии клеток.

[0029] Согласно некоторым аспектам предложен способ лечения состояния у субъекта, который нуждается в таком лечении. Способ включает введение субъекту любого одного или нескольких из миниантител, описанных в настоящем документе, для лечения любого одного или нескольких из нарушений CD3, CD8, АСКП, ПСМА и/или 5Т4, представленных в настоящем изобретении.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0030] На ФИГ. 1 представлена иллюстрация сконструированного миниантитела (МА).

[0031] На ФИГ. 2 представлена иллюстрация различных вариантов реализации шарниров МА на основе IgG1 человека (EH1 γ1 сверху и EH2 γ1 снизу).

[0032] На ФИГ. 3 представлена иллюстрация различных вариантов реализации шарниров МА на основе IgG2 человека (EH1 γ2 сверху и EH2 γ2 снизу).

[0033] На ФИГ. 4 представлена иллюстрация различных вариантов реализации дополнительных шарниров МА на основе IgG2 человека (NH1 γ2 сверху и NH2 γ2 снизу).

[0034] На ФИГ. 5А представлены изображения анализа вариантов шарнира IAB2M методом ДСН-ПААГ (электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия) в нередуцирующих условиях.

[0035] На ФИГ. 5B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH1 γ1.

[0036] На ФИГ. 5C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH2 γ1.

[0037] На ФИГ. 5D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH2 γ2.

[0038] На ФИГ. 5E представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M- EH1 γ2.

[0039] На ФИГ. 6A представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH1 γ1. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма в условиях обращенной фазы. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные массы, которые были идентифицированы.

[0040] На ФИГ. 6B представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH1 γ2. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма в условиях обращенной фазы. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные молекулярные массы, которые были идентифицированы.

[0041] На ФИГ. 6C представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH2 γ1. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма в условиях обращенной фазы. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные молекулярные массы, которые были идентифицированы.

[0042] На ФИГ. 6D представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH2 γ2. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма. На нижнем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие молекул с полноразмерной массой. Полумолекулы не были обнаружены.

[0043] На ФИГ. 7A представлены кривые связывания и значения связывания EC50 сконструированных вариантов шарнира IAB2M, определенные методом FACS (fluorescent-activated cell sorting, сортировки флуоресцентно-активированных клеток) с применением клеток LNCaP-AR.

[0044] На ФИГ. 7B представлены кривые связывания и значения связывания EC50 сконструированных вариантов шарнира IAB2M, определенные методом FACS с применением клеток C4-2 XCL.

[0045] На ФИГ. 7C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH3 γ1 без канонической сигнальной последовательности.

[0046] На ФИГ. 7D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH3 γ1 без канонической сигнальной последовательности.

[0047] На ФИГ. 7E представлена информация о последовательности ДНК для IAB2M EH3 γ1 без канонической сигнальной последовательности.

[0048] На ФИГ. 8 представлен перечень содержащих дисульфид пептидов, идентифицированных в димере IAB2M EH1 γ1.

[0049] На ФИГ. 9 представлена иллюстрация картирования дисульфидных связей IAB2M EH1 γ1, которая демонстрирует, где образовались неправильно спаренные цистеины.

[0050] На ФИГ. 10 представлена иллюстрация картирования дисульфидных связей

IAB2M EH1 γ2, которая свидетельствует об отсутствии неправильно спаренных цистеинов.

[0051] На ФИГ. 11A представлены изображения сканов ПЭТ/КТ (позитронно-эмиссионной томографии/компьютерной томографии) ^{89}Zr-Df-IAB2M EH1 γ1 у бестимусной мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли 22Rv1 (ПСМА+).

[0052] На ФИГ. 11B представлен график биораспределения ^{89}Zr-Df-IAB2M EH1 γ1 у бестимусных мышей.

[0053] На ФИГ. 12A представлены изображения сканов ПЭТ/КТ ^{89}Zr-Df-IAB2M EH2 γ1 у бестимусной мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли 22Rv1 (ПСМА+).

[0054] На ФИГ. 12B представлен график биораспределения ^{89}Zr-Df-IAB2M EH2 γ1 у бестимусных мышей.

[0055] На ФИГ. 13A представлены изображения сканов ПЭТ/КТ ^{89}Zr-Df-IAB2M EH2 γ2 у бестимусной мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли 22Rv1 (ПСМА+).

[0056] На ФИГ. 13B представлен график биораспределения ^{89}Zr-Df-IAB2M EH2 γ2 у бестимусных мышей.

[0057] На ФИГ. 14A представлен анализ интактной массы варианта IAB22M EH1 γ2. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные массы, которые были идентифицированы.

[0058] На ФИГ. 14B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH1 γ2.

[0059] На ФИГ. 15A представлен анализ интактной массы варианта IAB22 EH2 γ2. Белок разделяли в условиях обращенной фазы. На верхнем чертеже представлено сканирование в диапазоне полной массы. Увеличенная область полноразмерной массы подтверждает присутствие интактного, т.е. связанного дисульфидными мостиками белка (средний чертеж), тогда как увеличенная область полумолекул продемонстрировала, что полумолекулы по существу отсутствуют (нижний чертеж).

[0060] На ФИГ. 15B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации варианта IAB22M EH2 γ2.

[0061] На ФИГ. 16A представлены изображения сканов ПЭТ/КТ мышей, несущих ксенотрансплантат опухоли HPB-ALL (CD8+), сравнивающие миниантитела 89Zr-Df-IAB22M с последовательностями шарнира, полученными из IgG1 человека и IgG2 человека.

[0062] На ФИГ. 16B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH1 γ1.

[0063] На ФИГ. 16C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M NH1 γ2.

[0064] На ФИГ. 16D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M NH2 γ2.

[0065] На ФИГ. 17 представлены изображения сканов ПЭТ/КТ, сравнивающие поглощение 89Zr-Df-IAB22M EH1 γ1 у мыши NOD-SCID с антиген-положительной опухолью HPB-ALL и антиген-отрицательной опухолью Дауди (только правый чертеж).

[0066] На ФИГ. 18 представлен график биораспределения 89Zr-Df-IAB22M EH1 γ1 у мышей с антиген-положительной опухолью HPB-ALL и антиген-отрицательной опухолью Дауди. Количества показаны справа.

[0067] ФИГ. 19 представляет собой иллюстрацию некоторых вариантов реализации вариантов шарнира, перечисленных в таблице 7 (EH1 γ1 сверху, EH3 γ1 посередине, EH4 γ1 снизу).

[0068] На ФИГ. 20A представлен график, обобщающий процент полумолекул, присутствующих в различных вариантах шарнира для IAB2M, который был определен методом масс-спектрометрии.

[0069] На ФИГ. 20B представлен график, обобщающий процент полумолекул, присутствующих в различных вариантах шарнира для IAB22M, который был определен методом масс-спектрометрии.

[0070] На ФИГ. 20C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH3 γ1.

[0071] На ФИГ. 20D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH5 γ1.

[0072] На ФИГ. 20E представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH6 γ3/γ1.

[0073] На ФИГ. 20F представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH7 γ3/γ1.

[0074] На ФИГ. 20G представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH8 γ3/γ1.

[0075] На ФИГ. 21A представлено изображение анализа вариантов шарнира MA IAB2M методом ДСН-ПААГ в нередуцирующих условиях (левый чертеж) и процент полумолекул, количественно определенный методом денситометрии (правый чертеж).

[0076] На ФИГ. 21B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH5 γ1.

[0077] На ФИГ. 21C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH6 γ3/γ1.

[0078] На ФИГ. 21D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH7 γ3/γ1.

[0079] На ФИГ. 21E представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB2M EH8 γ3/γ1.

[0080] На ФИГ. 22A представлено изображение анализа вариантов шарнира MA IAB22M методом ДСН-ПААГ в нередуцирующих условиях (левый чертеж) и процент полумолекул, количественно определенный методом денситометрии (правый чертеж).

[0081] На ФИГ. 22B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB22M EH2 γ1.

[0082] На ФИГ. 23 представлен анализ интактной массы варианта IAB22M EH1 γ1. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные массы, которые были идентифицированы.

[0083] На ФИГ. 24 представлен анализ интактной массы варианта IAB22M EH3 γ1. Белок разделяли в условиях обращенной фазы. На верхнем чертеже представлено сканирование в диапазоне полной массы. Увеличенная область полноразмерной массы подтверждает присутствие интактного белка (средний чертеж). Увеличенная область полумолекул продемонстрировала, что полумолекулы по существу отсутствуют (нижний чертеж).

[0084] На ФИГ. 25A и 25B представлен анализ интактной массы вариантов шарнира IAB22M γ2. На ФИГ. 25A представлена полная ионная хроматограмма варианта IAB22M

EH1 γ2 (ФИГ. 14B) в условиях обращенной фазы (верхний чертеж). На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные массы, которые были идентифицированы. Отметим, что гетерогенность является следствием отщепления концевого лизина. На ФИГ. 25B представлен деконволированный скан варианта IAB22M EH2 γ2 (ФИГ. 15B) в полном диапазоне (верхний чертеж), который идентифицирует одиночные молекулы с m/z (соотношением масса/заряд) 79053,1 Да. Увеличенная полноразмерная молекулярная масса показана на среднем чертеже; полумолекула является малораспространенной, и ее количество незначительно превышает уровень шума (нижний чертеж).

[0085] На ФИГ. 26 представлены кривые связывания и значения связывания EC50 сконструированных вариантов шарнира IAB2M, определенные методом FACS с применением клеток C4-2 XCL.

[0086] На ФИГ. 27 представлены кривые связывания и значения связывания EC50 сконструированных вариантов шарнира IAB22M, определенные методом FACS с применением клеток HPB-ALL.

[0087] На ФИГ. 28A представлено изображение анализа вариантов шарнира MA IAB20M методом ДСН-ПААГ в нередуцирующих условиях (левый чертеж) и процент полумолекул, количественно определенный методом денситометрии (правый чертеж).

[0088] На ФИГ. 28B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB20M EH1 γ1.

[0089] На ФИГ. 28C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB20M EH3 γ1.

[0090] На ФИГ. 28D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB20M EH2 γ1.

[0091] На ФИГ. 28E представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB20M EH5 γ1.

[0092] На ФИГ. 29A представлено изображение анализа вариантов шарнира MA IAB1M методом ДСН-ПААГ в нередуцирующих условиях (левый чертеж) и процент полумолекул, количественно определенный методом денситометрии (правый чертеж).

[0093] На ФИГ. 29B представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB1M EH1 γ1.

[0094] На ФИГ. 29C представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB1M EH2 γ2.

[0095] На ФИГ. 29D представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB1M EH3 γ1.

[0096] На ФИГ. 30 представлены изображения сканов ПЭТ/КТ, сравнивающие поглощение меченных радиоактивным изотопом ^{89}Zr MA IAB22 с различными последовательностями шарнира на мышах NOD-SCID, несущих на левом плече антиген-положительные ксенотрансплантаты HPB-ALL.

[0097] На ФИГ. 31 представлен график данных биораспределения меченных радиоактивным изотопом ^{89}Zr MA IAB22 с различными последовательностями шарнира на мышах NOD-SCID, несущих на левом плече антиген-положительные ксенотрансплантаты HPB-ALL.

[0098] На ФИГ. 32 представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB20M EH2 γ2.

[0099] На ФИГ. 33 представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB25M-EH2 γ2.

[0100] На ФИГ. 34A представлена последовательность ДНК, кодирующая некоторые варианты реализации MA IAB2M.

[0101] На ФИГ. 34B представлена последовательность ДНК, кодирующая некоторые варианты реализации MA IAB2M.

[0102] На ФИГ. 34C представлена последовательность ДНК, кодирующая некоторые варианты реализации MA IAB2M.

[0103] На ФИГ. 34D представлена последовательность ДНК, кодирующая некоторые варианты реализации MA IAB2M.

[0104] На ФИГ. 34E представлена последовательность ДНК, кодирующая некоторые варианты реализации MA IAB2M.

[0105] На ФИГ. 34F представлена последовательность ДНК, кодирующая некоторые варианты реализации MA IAB2M.

[0106] На ФИГ. 35A представлена информация о последовательности белка вариантов шарнира MA IAB2M.

[0107] На ФИГ. 35B представлена информация о последовательности белка вариантов шарнира MA IAB2M.

[0108] На ФИГ. 35C представлена информация о последовательности белка вариантов шарнира MA IAB2M.

[0109] На ФИГ. 36A представлена информация о последовательности белка доменов VL и VH MA с различными антигенными специфичностями.

[0110] На ФИГ. 36B представлена информация о последовательности белка доменов VL и VH MA с различными антигенными специфичностями.

[0111] На ФИГ. 36C представлена информация о последовательности белка доменов VL и VH MA с различными антигенными специфичностями.

[0112] На ФИГ. 36D представлена информация о последовательности белка доменов VL и VH MA с различными антигенными специфичностями.

[0113] На ФИГ. 36E представлена информация о последовательности белка доменов VL и VH MA с различными антигенными специфичностями.

[0114] На ФИГ. 37 представлена информация о последовательности белка различных вариантов реализации линкерных последовательносетй.

[0115] На ФИГ. 38 представлена информация о последовательности белка различных вариантов реализации шарнирных областей.

[0116] На ФИГ. 39 представлена информация о последовательности белка различных вариантов реализации доменов C_H3.

[0117] На ФИГ. 40 представлено выравнивание последовательностей белка варианта реализации каждого из IAB22M EH1 γ1 (M1) и IAB22M EH3 γ1 (M1). Различия последовательности показаны в прямоугольниках.

[0118] На ФИГ. 41 представлена линкерные последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB22M EH3 γ1 (M1). В прямоугольниках показаны сигнальная последовательность, CDR, последовательности и шарнира.

[0119] На ФИГ. 42 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB22M EH5 γ1 (M1).

[0120] На ФИГ. 43 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB22M EH7 γ1 (M1).

[0121] На ФИГ. 44 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB22M EH8 γ1 (M1).

[0122] На ФИГ. 45 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB22M EH2 γ2 (M1).

[0123] На ФИГ. 46 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB22M EH2 γ2 (M1) с полиморфизмом VH-K67R.

[0124] На ФИГ. 47 представлено выравнивание последовательностей белка варианта реализации каждого из IAB2M EH1 γ1 (M2) и IAB2M EH3 yl (M2). Различия последовательности показаны в прямоугольниках.

[0125] На ФИГ. 48 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB2M EH3 γ1 (M2). В прямоугольниках показаны сигнальная последовательность, CDR, линкерные и шарнирные последовательности.

[0126] На ФИГ. 49 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB2M EH3 γ1 (M2) (G1m1).

[0127] На ФИГ. 50 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB2M EH5 γ1 (M2).

[0128] На ФИГ. 51 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB2M EH7 γ1 (M2).

[0129] На ФИГ. 52 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB2M EH8 γ1 (M2).

[0130] На ФИГ. 53 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB2M EH3 γ1 (M1).

[0131] На ФИГ. 54 представлено выравнивание последовательностей белка варианта реализации каждого из IAB20M EH1 γ1 (M2) и IAB20M EH3 γ1 (M2) с полиморфизмами VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E. Различия последовательности показаны в прямоугольниках.

[0132] На ФИГ. 55 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB20M EH3 γ1 (M2) с полиморфизмами VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E. В прямоугольниках показаны сигнальная последовательность, CDR, линкерные и шарнирные последовательности.

[0133] На ФИГ. 56 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB20M EH3 γ1 (M2).

[0134] На ФИГ. 57 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB20M EH3 γ1 (M2) с полиморфизмами VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E.

[0135] На ФИГ. 58 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB20M EH5 γ1 (M2) с полиморфизмами VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E.

[0136] На ФИГ. 59 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB20M EH5 γ1 (M2) с полиморфизмами VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E.

[0137] На ФИГ. 60 представлено выравнивание последовательностей белка варианта реализации каждого из IAB1M EH1 γ1 (M1) и IAB1M EH3 γ1 (M1). Различия последовательности показаны в прямоугольниках.

[0138] На ФИГ. 61 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB1M EH3 γ1 (M1). В прямоугольниках показаны сигнальная последовательность, CDR, линкерные и шарнирные последовательности.

[0139] На ФИГ. 62 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB1M EH2 γ2 (M1).

[0140] На ФИГ. 63 представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB1M EH5 γ1 (M1).

[0141] На ФИГ. 64 представлена последовательность ДНК и транслированного

белка варианта реализации IAB1M EH7 γ1 (M1).

[0142] На ФИГ. 65A представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB1M EH8 γ1 (M1).

[0143] На ФИГ. 65B представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB25M NH γ2 (M1).

[0144] На ФИГ. 65C представлена последовательность ДНК и транслированного белка варианта реализации IAB25M EH γ2 (M1).

[0145] На ФИГ. 66 представлена последовательность белка варианта реализации домена VHIAB22M.

[0146] На ФИГ. 67 представлена последовательность белка некоторых вариантов реализации домена VL IAB20.

[0147] На ФИГ. 68 представлена последовательность белка варианта реализации домена VH IAB20.

[0148] На ФИГ. 69 представлена последовательность белка некоторых вариантов реализации доменов VL и VH антитела против CD3.

[0149] На ФИГ. 70 представлена последовательность белка варианта реализации ПСМА (простатического специфического мембранного антигена), также известного как глутаматкарбоксипептидаза 2, из Homo sapiens.

[0150] На ФИГ. 71 представлена последовательность белка варианта реализации АСКП (антигена стволовых клеток предстательной железы) из Homo sapiens.

[0151] На ФИГ. 72 представлена последовательность белка варианта реализации онкофетального трофобластного гликопротеина 5T4 из Homo sapiens.

[0152] На ФИГ. 73 представлена последовательность белка варианта реализации цепи альфа гликопротеина поверхности Т-клеток CD8 из Homo sapiens.

[0153] На ФИГ. 74 представлена последовательность белка варианта реализации цепи бета гликопротеина поверхности Т-клеток CD8 из Homo sapiens.

[0154] На ФИГ. 75 представлена последовательность белка варианта реализации цепи дельта гликопротеина поверхности Т-клеток CD3 из Homo sapiens.

[0155] На ФИГ. 76 представлена последовательность белка варианта реализации цепи гамма гликопротеина поверхности Т-клеток CD3 из Homo sapiens.

[0156] На ФИГ. 77 представлена последовательность белка варианта реализации цепи эпсилон гликопротеина поверхности Т-клеток CD3 из Homo sapiens.

[0157] На ФИГ. 78 представлена последовательность белка варианта реализации цепи дзета гликопротеина поверхности Т-клеток CD3 из Homo sapiens.

[0158] На ФИГ. 79 представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB25M - EH2 γ2.

[0159] На ФИГ. 80 представлена информация о последовательности белка для некоторых вариантов реализации IAB20M - EH2 γ2.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0160] В настоящем документе описаны компоненты антигенсвязывающих конструкций, включая антитела и их фрагменты, такие как миниантитела, которые связываются с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные компоненты представляют собой новые последовательности шарнира и/или последовательности, связанные с последовательностью шарнира и/или являющиеся частью последовательности шарнира. Данные последовательности шарнира могут обеспечить различные преимущества. Также в настоящем изобретения предложены антигенсвязывающие конструкции (такие как антитела, миниантитела и т.д.), которые содержат одну или более из

последовательностей шарнира или субпоследовательностей, описанных в настоящем документе.

[0161] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции могут быть подходящими для нацеливания терапевтических средств на клетки, которые экспрессируют молекулу-мишень. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия молекулы-мишени (или «мишени») с применением антигенсвязывающих конструкций (включая антитела и конструкции, такие как миниантитела). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы применения антигенсвязывающих конструкций для терапевтических целей.

[0162] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения scFv и антитела миниантитела могут обладать превосходящими фармакокинетическими свойствами для более быстрой диагностической визуализации при сохранении специфичности связывания и аффинности родительского антитела. В применяемой на сегодняшний день технологии используют визуализацию с помощью полноразмерных антител, для которой часто требуется более длительное время (~7 - 8 дней после инъекции) для получения высококонтрастных изображений в связи с медленным клиренсом интактного антитела в сыворотке. Некоторые варианты реализации миниантитела, описанного в настоящем документе, обеспечивают возможность визуализации в тот же день или на следующий день. Визуализация в тот же день или на следующий день также обеспечивает решение логистической проблемы, с которой сталкивается множество пациентов, которые преодолевают большие расстояния для получения лечения/диагностики, поскольку длительное пребывание в поездке или необходимость вернуться через неделю будет отсутствовать при визуализации с применением миниантител по сравнению с интактными антителами.

[0163] Как подробно описано ниже, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции предназначены для диагностики. При мечении соответствующими радионуклидами (например, излучателями позитронов Иодом-124, Медью-64, Фтором-18, Галлием-68 и/или Цирконием-89 для визуализации методом ПЭТ) или флуорофором (для флуоресцентной визуализации) фрагменты антитела можно применять для доклинической визуализации, как показано в настоящем документе, и для клинической визуализации у пациентов. Данные антигенсвязывающие конструкции также можно применять в качестве потенциальных средств для визуализации методом ОЭКТ (однофотонной эмиссионной компьютерной томографии) посредством простой замены радиоактивной метки испускающими один фотон радионуклидами, такими как Индий-111, Иод-123 и Лютеций-177.

[0164] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции могут представлять собой клинические визуализирующие средства (ПЭТ/ОЭКТ) у людей. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции можно применять для прицельного диагностического обнаружения данных нарушений. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно применять в качестве терапевтического средства.

Определения и различные варианты реализации

[0165] Термин «шарнир» означает по меньшей мере часть шарнирной области антигенсвязывающей конструкции, такой как антитело или миниантитело. Шарнирная

область может содержать комбинацию верхней шарнирной, основной (или средней) шарнирной и нижней шарнирной областей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир определяют согласно любым определениям шарнира антитела. Нативные антитела IgG1, IgG2 и IgG4 содержат шарнирные области, содержащие по 12-15 аминокислот. IgG3 содержит удлиненную шарнирную область, содержащую 62 аминокислоты, в том числе 21 пролин и И цистеинов. Согласно результатам кристаллографических исследований функциональная шарнирная область встречающихся в природе антител простирается от остатков аминокислот 216-237 цепи H IgG1 (нумерация согласно EU; ссылка 12) и содержит небольшой сегмент N-конца домена CH2 в нижней области шарнира, причем нижний шарнир является N-концом домена CH2. Шарнир можно разделить на три области: «верхнюю шарнирную, «основную» и «нижнюю шарнирную».

[0166] Термин «искусственный» или «неприродный» при модификации шарнира (или его части) означает, что последовательность, о которой идет речь, не присутствует в указанном состоянии в природе. В настоящем контексте шарниры были изменены по сравнению с их нативным состоянием, так что их последовательности уже не являются таковыми, обнаруженными в антителах дикого типа. Как очевидно специалистам в данной области техники, миниантитела естественным образом не встречаются в природе, и, таким образом, любая конструкция, которая представляет собой конструкцию миниантитела, также не обнаружена в природе. Это также применимо к по меньшей мере некоторым из конструкций, представленных в любой из таблиц последовательностей шарнира, и/или содержащих последовательности любой из таблиц последовательностей шарнира, представленных в настоящем изобретении (например, таблицы 2). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любая из последовательностей частей шарнира или полного шарнира в таблице 11 может представлять собой искусственные последовательности шарнира, поскольку последовательность (или полученная в результате комбинация для шарнира) не встречается в природе.

[0167] Термин «полная шарнирная область» или «целая шарнирная область» означает присутствие целой верхней, основной и нижней шарнирных областей в виде единой конструкции. Верхняя, основная и нижняя области могут быть расположены непосредственно рядом друг с другом, или между ними либо с N- или с C-конца от областей могут быть добавлены дополнительные остатки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нативный нижний шарнир может быть заменен удлиняющей последовательностью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно объединить нативный нижний шарнир с удлиняющей последовательностью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения после последовательности верхнего и/или основного шарнира можно добавить удлинение или другой набор последовательностей.

[0168] Фраза «эффективная шарнирная область» означает, что присутствует надлежащее количество части по меньшей мере одной из верхней, основной и нижней шарнирных областей, чтобы обеспечить эффективность шарнирной области для предусмотренного применения. Таким образом, данная фраза включает варианты шарнирных областей и фрагменты различных шарнирных областей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения функция шарнирной области представляет собой одну или более функций из следующих: связывание scFv с доменом C_H3, обеспечение гибкости и дистанцирования двух scFv для надлежащего связывания с мишенью, связывание двух полумолекул вместе, обеспечение общей стабильности

молекулы и/или обеспечение участка для сайт-специфичной конъюгации в связи с его экспонированием в раствор. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир должен быть близок к природному для снижения потенциальной иммуногенности. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения верхний шарнир обеспечивает гибкость scFv (в нативных IgG начинается с остатка 216), средний шарнир обеспечивает стабильность, и нижний шарнир обеспечивает гибкость C_H3 (в нативных IgG начинается с остатка 231).

[0169] Термин «верхний шарнир» означает первую часть шарнира, которая начинается в конце scFv. Примеры верхних шарнирных областей можно найти в таблице 1. Верхний шарнир содержит аминокислоты от конца scFv до, но не включая, первого остатка цистеина в основном шарнире, представленном в таблице 1. Как указано выше, термин «эффективный верхний шарнир» означает, что присутствует достаточная часть последовательности, чтобы позволить участку функционировать в качестве верхнего шарнира; данный термин включает функциональные варианты и фрагменты указанного участка шарнира.

[0170] Термин «основный шарнир» означает вторую часть шарнирной области, которая является С-концевой относительно верхнего шарнира. Примеры основных шарнирных областей можно найти в таблице 1. Основный шарнир содержит межцепочечные дисульфидные мостики и характеризуется высоким содержанием пролина. Как указано выше, термин «эффективный основный шарнир» означает, что присутствует достаточная часть последовательности, чтобы позволить участку функционировать в качестве основного шарнира; данный термин включает функциональные варианты и фрагменты указанного участка шарнира.

[0171] Термин «нижний шарнир» означает третью часть шарнирной области, которая является С-концевой относительно основного шарнира. Примеры нижней шарнирной области можно найти в таблице 1. В контексте миниантитела или фрагмента антитела нижний шарнир соединен с доменом C_H3 МА. Как указано выше, термин «эффективный нижний шарнир» означает, что присутствует достаточная часть последовательности, чтобы позволить участку функционировать в качестве нижнего шарнира; данный термин включает функциональные варианты и фрагменты указанного участка шарнира. Термин «нижний шарнир» в настоящем документе может включать различные аминокислотные последовательности, включая встречающиеся в природе последовательности нижнего шарнира IgG и искусственные удлиняющие последовательности друг вместо друга или их комбинацию, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения различные удлинения можно считать полностью нижней шарнирной областью или замещением.

[0172] Термин «лечение» состояния может означать предотвращение состояния, замедление манифестации и/или скорости развития состояния, снижение риска развития состояния, предотвращение и/или отсрочивание развития симптомов, связанных с состоянием, снижение или прекращение симптомов, связанных с состоянием, обеспечение полной или частичной регрессии состояния или некоторую комбинацию указанных событий. Термин «предотвращать» не требует полного прекращения нарушения или заболевания.

[0173] «Терапевтически эффективное количество» или «терапевтически эффективная доза» представляет собой количество, которое вызывает целевой терапевтический эффект у субъекта, такой как предотвращение, лечение целевого состояния, отсрочивание манифестации нарушения и/или симптомов, и/или облегчение симптомов, связанных с

состоянием. Данное количество будет варьировать в зависимости от множества факторов, включая, без ограничения, характеристики терапевтического соединения (включая активность, фармакокинетику, фармакодинамику и биодоступность), физиологическое состояние субъекта (включая возраст, пол, тип и стадию заболевания, общее физическое состояние, восприимчивость к вводимой дозе и тип лекарственной терапии), природу фармацевтически приемлемого носителя или носителей в составе и/или путь введения. Специалист в клинической или фармакологической области способен определить терапевтически эффективное количество в результате проведения общепринятых экспериментов, например, посредством контроля над ответом субъекта на введение соединения и соответствующей корректировки дозы с учетом настоящего изобретения. Дополнительные указания см. в руководстве Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st Edition, Univ. of Sciences in Philadelphia (USIP), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2005.

[0174] Термин «антигенсвязывающая конструкция» включает все разновидности антител, в том числе их связывающие фрагменты. Также включены конструкции, которые содержат 1, 2, 3, 4, 5 и/или 6 CDR. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения могут быть предложены последовательно расположенные scFv, которые могут обеспечить два плеча с бивалентным связыванием. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные CDR могут быть распределены между их соответствующими каркасными участками в традиционном антителе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CDR могут содержаться в вариабельной области тяжелой и/или легкой цепей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CDR могут находиться в тяжелой цепи и/или легкой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CDR могут находиться в единичной пептидной цепи. Если в настоящей заявке не указано обратное, антигенсвязывающие конструкции, описанные в настоящем документе, связываются с указанной молекулой-мишенью. Термин «мишень» или «молекула-мишень» означает белок, с которым связывается антигенсвязывающая конструкция. Примеры белков-мишеней известны в данной области техники и включают, например, ПСМА (такой как FOLH1) (ФИГ. 70; SEQ ID NO: 131), АСКП (ФИГ. 71; SEQ ID NO: 132), 5T4 (такой как TPBG) (ФИГ. 72; SEQ ID NO: 133), CD8 (например, α-цепь) (ФИГ. 73; SEQ ID NO: 134), CD8 (например, β-цепь) (ФИГ. 74; SEQ ID NO: 135), CD3 (например, δ-цепь) (ФИГ. 75; SEQ ID NO: 136), CD3 (например, γ-цепь) (ФИГ. 76; SEQ ID NO: 137), CD3 (например, ε-цепь) (ФИГ. 77; SEQ ID NO: 138), CD3 (например, ζ-цепь) (ФИГ. 78; SEQ ID NO: 139).

[0175] Термин «антитело» включает, без ограничения, генно-инженерные или другим способом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интраантитела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела, фрагменты антитела, scFv и гетероконъюгированные антитела (например, биспецифичные антитела, диатела, триатела, тетратела и т.д.). Термин «антитело» включает scFv и миниантитела. Таким образом, все без исключения варианты реализации, описанные в настоящем документе в отношении «антител», также предусмотрены в качестве вариантов реализации scFv и/или миниантител, если однозначно не указано обратное. Термин «антитело» включает полипептид семейства иммуноглобулинов или полипептид, содержащий фрагменты иммуноглобулина, способный к нековалентному обратимому и специфичному связыванию с соответствующим антигеном. Иллюстративная структурная единица антитела включает тетрамер. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полноразмерное антитело

может состоять из двух идентичных пар полипептидных цепей, причем каждая пара содержит одну «легкую» и одну «тяжелую» цепь (соединенные дисульфидной связью). Обнаруженные гены иммуноглобулинов включают гены константной области каппа, лямбда, альфа, гамма, дельта, эпсилон, шарнир и мю, а также мириады генов вариабельной области иммуноглобулинов. В случае полноразмерных цепей легкие цепи классифицируют как каппа или лямбда. В случае полноразмерных цепей тяжелые цепи классифицируют как гамма, мю, альфа, дельта или эпсилон, которые в свою очередь определяют классы иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, соответственно. N-конец каждой цепи определяет вариабельную область, состоящую из приблизительно от 100 до 110 или более аминокислот, преимущественно отвечающих за распознавание антигена. Термины «вариабельная область легкой цепи» (V_L) и «вариабельная область тяжелой цепи» (V_H) означают данные области легкой и тяжелой цепей, соответственно. В настоящей заявке «антитело» включает все варианты антитела и их фрагменты. Таким образом, в пределах данной концепции находятся полноразмерные антитела, химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела (scFv), Fab, Fab' и мультимерные версии данных фрагментов (например, $F(ab')_2$) с той же специфичностью связывания. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело специфично связывается с целевой мишенью.

[0176] Термины «определяющие комплементарность домены» или «участки, определяющие комплементарность» («complementarity-determining regions, CDR»), взаимозаменяемо означают гипервариабельные участки V_L и V_H. CDR представляют собой участок цепи антитела, связывающий молекулу-мишень, который обладает специфичностью в отношении такой молекулы-мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в каждой V_L и/или V_H существует три CDR (CDR1-3, пронумерованы последовательно от N-конца), составляющие приблизительно 15-20% вариабельных доменов. CDR структурно комплементарны эпитопу молекулы-мишени и, таким образом, непосредственно отвечают за специфичность связывания. Оставшиеся фрагменты V_L или V_H, так называемые каркасные участки (framework regions, FR), демонстрируют меньше изменений в аминокислотной последовательности (Kuby, Immunology, 4th ed., Chapter 4. W.H. Freeman & Co., New York, 2000).

[0177] Положения CDR и каркасных участков можно определить с применением различных хорошо известных в данной области техники определений, например, Кэбота (Wu, T.T. et al., "An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity," J. Exp. Med., Vol. 132, No. 2, pp. 211-250, 1970; Kabat, E.A. et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed., NIH Publication No. 91-3242, Bethesda, MD, 1991, Chothia C. et al., "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins," J. Mol. Biol., Vol. 196, No. 4, pp. 901-917, 1987; Chothia C. et al., "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions," Nature, Vol. 342, No. 6252, pp. 877-883, 1989; Chothia C. et al., "Structural repertoire of the human VH segments," J. Mol. Biol., Vol. 227, No. 3, pp. 799-817, 1992; Al-Lazikani B. et al., "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins," J. Mol. Biol., Vol. 273, No. 4, pp. 927-748, 1997), с помощью базы данных ImMunoGeneTics (IMGT) (во всемирной сети по адресу imgt.org/) (Giudicelli, V. et al., "IMGT/LIGM-DB, the IMGT® comprehensive database of immunoglobulin and T cell receptor nucleotide sequences," Nucleic Acids Res., Vol. 34 (Database Issue), pp. D781-D784, 2006; Lefranc, M.P. et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev. Comp. Immunol., Vol. 27, No. 1, pp. 55-77, 2003; Brochet, X. et al, "IMGT/V-

QUEST: the highly customized and integrated system for IG and TR standardized V-J and V-D-J sequence analysis," Nucleic Acids Res, Vol. 36 (Web Server Issue), pp. W503-508, 2008; с помощью AbM (Martin, A.C. et al, "Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm, "Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 86, No. 23, pp. 9268-9272, 1989); с помощью контактного определения (MacCallum, R.M. et al, "Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol, Vol. 262, No. 5, pp. 732-745, 1996) и/или с помощью инструмента для автоматического моделирования и анализа (Honegger, A. et al, доступно во всемирной сети по адресу bioc.uzh.ch/plueckthun/antibody/Numbering/).

[0178] Термины «детерминанта специфичности связывания» или «BSD» (binding specificity determinant) взаимозаменяемо означают минимальную смежную или несмежную аминокислотную последовательность в участке, определяющем комплементарность, необходимую для определения специфичности связывания антитела. Минимальная детерминанта специфичности связывания может находиться в одной или нескольких последовательностях CDR. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения минимальные детерминанты специфичности связывания находятся (т.е. определяются исключительно) в части или полноразмерных последовательностях CDR3 тяжелой и легкой цепей антитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CDR3 вариабельной области тяжелой цепи является достаточным для специфичности антигенсвязывающей конструкции.

[0179] «Вариабельная область легкой цепи антитела» или «вариабельная область тяжелой цепи антитела» в настоящем документе означает полипептид, содержащий V_L или V_H, соответственно. Эндогенная V_L кодируется сегментами гена V (variable, вариабельный) и J (junctional, соединительный), а эндогенная V_H - V, D (diversity, разнообразие) и J. Каждая из V_L или V_H содержит CDR, а также каркасные участки. В настоящей заявке вариабельная область легких цепей антитела и/или вариабельная область тяжелых цепей антитела могут, время от времени, в совокупности называться «цепями антитела». Данные термины включают цепи антитела, содержащие мутации, которые не нарушают основной структуры V_L или V_H, как с легкостью поймет специалист в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предусмотрены полноразмерные тяжелая и/или легкая цепи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предусмотрено, что присутствует только вариабельная область тяжелой и/или легкой цепей.

[0180] Антитела могут существовать в виде интактных иммуноглобулинов или в виде множества фрагментов, полученных в результате расщепления различными пептидазами. Так, например, пепсин расщепляет антитело ниже дисульфидной связи в шарнирной области с получением F(ab)'2, димера Fab', который сам по себе представляет собой легкую цепь (V_L-C_L), присоединенную к V_H-C_H1 посредством дисульфидной связи. $F(ab)'_2$ можно восстановить в мягких условиях для разрушения дисульфидной связи в шарнирной области, и посредством этого преобразовать димер $F(ab)'_2$ в мономер Fab'. Мономер Fab' представляет собой Fab с частью шарнирной области. (Paul, W.E., "Fundamental Immunology," 3d Ed., New York: Raven Press, 1993). Несмотря на то, что различные фрагменты антитела определены с точки зрения расщепления интактного антитела, специалист понимает, что такие фрагменты можно синтезировать de novo химическим способом или с применением методологии рекомбинантной ДНК. Таким образом, термин «антитело» в настоящем документе также включает фрагменты антитела, полученные посредством модификации целых антител, или таковые,

синтезированные de novo с применением методологии рекомбинантной ДНК (например, одноцепочечные Fv), или таковые, идентифицированные с применением библиотек фагового дисплея (см., например, публикацию McCafferty, J. et al., "Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains," Nature, Vol. 348, No. 66301, pp. 552-554, 1990).

[0181] Для получения моноклональных или поликлональных антител можно применять любую методику, известную в данной области техники (см., например, публикации Kohler, G. et al., "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity," Nature, Vol. 256, No. 5517, pp. 495-497,1975; Kozbor, D. et al., "The production of monoclonal antibodies from human lymphocytes," Immunology Today, Vol. 4, No. 3, pp. 72-79, 1983; Cole, et al., "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy," Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1985; Wang, S., "Advances in the production of human monoclonal antibodies," Antibody Technology Journal, Vol. 1, pp. 1-4, 2011; Sharon, J. et al., "Recombinant polyclonal antibodies for cancer therapy," J. Cell Biochem., Vol. 96, No. 2, pp. 305-313, 2005;; Haurum, J.S., "Recombinant polyclonal antibodies: the next generation of antibody therapeutics?," Drug Discov. Today, Vol. 11, No. 13-14, pp. 655-660, 2006). Методики получения одноцепочечных антител (патент США №4,946,778) можно приспособить для получения антител против полипептидов согласно настоящему изобретению. Также для экспрессии полностью человеческих моноклональных антител можно применять трансгенных мышей или другие организмы, такие как другие млекопитающие. В качестве альтернативы, для идентификации антител, связывающихся с высокой аффинностью с выбранными антигенами, можно применять технологию фагового дисплея (см., например, публикации McCafferty et al, ссылка выше; Marks, J.D. et al., "By-passing immunization: building high affinity human antibodies by chain shuffling," Biotechnology (N.Y.), Vol. 10, No. 7, pp. 779-783, 1992).

[0182] Способы гуманизации или приматизации антител, отличных от антител человека, хорошо известны в данной области техники. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более остатков аминокислот, введенных в него из источника, отличного от человека. Данные отличные от человека остатки аминокислот часто называют импортными остатками, которые, как правило, отбирают из импортного вариабельного домена. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять термины «донорная» и «акцепторная» последовательности. Гуманизацию можно осуществить по существу согласно способу Winter с соавторами (см., например, публикации Jones, P.T. et al., "Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse," Nature, Vol. 321, No. 6069, pp. 522-525, 1986; Riechmann, L. et al., "Reshaping human antibodies for therapy," Nature, Vol. 332, No. 6162, pp. 323-327, 1988; Verhoeyen, M. etal., "Reshaping human antibodies: grafting an antilysozyme activity," Science, Vol. 239, No. 4847, pp. 1534-1536, 1988; Presta, L. G., "Antibody engineering,", Curr. Op. Struct. Biol., Vol. 2, No. 4, pp. 593-596, 1992) посредством замены последовательности CDR или последовательностей CDR грызунов соответствующими последовательностями антитела человека. Соответственно, такие гуманизированные антитела являются химерными антителами (патент США №4,816,567), в которых по существу менее чем интактный вариабельный домен человека был заменен соответствующей последовательностью вида, отличного от человека. На практике гуманизированные антитела представляют собой, как правило, антитела человека, в которых некоторые остатки участка, определяющего комплементарность («CDR»), и, возможно, некоторые каркасные («FR») остатки заменены остатками из аналогичных участков антител грызунов.

[0183] «Химерное антитело» представляет собой молекулу антитела, в которой (a) константная область или ее часть изменена, заменена или обменяна так, что антигенсвязывающий участок (вариабельная область) присоединен к константной области другого или измененного класса, эффекторной функции и/или вида, или к полностью отличной молекуле, которая обеспечивает химерному антителу новые свойства, например, к ферменту, токсину, гормону, фактору роста и лекарственному средству; или (b) вариабельная область или ее часть изменена, заменена или обменяна на вариабельную область, обладающую отличной или измененной антигенной специфичностью.

[0184] Антитела также включают одну или более цепей иммуноглобулина, которые конъюгированы химическим способом с другими белками или экспрессированы в виде слитых с другими белками белков. Антитела также включают биспецифичные антитела. Биспецифичное или бифункциональное антитело представляет собой искусственное гибридное антитело, содержащее две различные пары тяжелой/легкой цепи и два различных связывающих участка.

[0185] Другие антигенсвязывающие фрагменты или части антитела согласно настоящему изобретению включают биспецифичные scFv антитела, в которых молекула антитела распознает два различных эпитопа, единичные связывающие домены (sdAb или наноантитела) и миниантитела.

[0186] Термин «фрагмент антитела» включает, без ограничения, один или более антигенсвязывающих фрагментов антител самих по себе или в комбинации с другими молекулами, включая, без ограничения, фрагменты Fab', $F(ab')_2$, Fab, Fv, rIgG (восстановленный IgG), scFv, однодоменные фрагменты (наноантитела), пептид-ассоциированные антитела, миниантитела. Термин «scFv» означает одноцепочечное Fv-антитело («fragment variable», вариабельный фрагмент), в котором вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи традиционного двухцепочечного антитела были объединены для образования одной цепи.

[0187] Фармацевтически приемлемый носитель может представлять собой фармацевтически приемлемое вещество, композицию или носитель, который вовлечен в перенос или транспортирование соединения, представляющего интерес, из одной ткани, органа или части тела в другую ткань, орган или часть тела. Например, носитель может представлять собой жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующее вещество либо некоторые комбинации указанных веществ. Каждый компонент носителя является «фармацевтически приемлемым» в том смысле, что он является совместимым с другими компонентами состава. Носитель также должен быть подходящим для осуществления контакта с любой тканью, органом или частью тела, с которыми он может сталкиваться; это означает, что носитель не должен нести риска токсичности, раздражения, аллергического ответа, иммуногенности или любого другого осложнения, которое чрезмерно превышает его терапевтическую пользу. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, можно вводить посредством любого подходящего пути введения. Путь введения может означать любой путь введения, известный в данной области техники, включая, без ограничения, аэрозоль, энтеральный, назальный, офтальмический, пероральный, парентеральный, ректальный, трансдермальный (например, крем или мазь для местного применения, пластырь) или вагинальный. «Трансдермальное» введение можно осуществить с применением крема или мази для местного применения или посредством трансдермального пластыря. «Парентеральный» означает путь введения, который, как правило, связан с инъекцией, включая

инфраорбитальную, инфузию, внутриартериальную, внутрикапсульную, внутрисердечную, внутрикожную, внутримышечную, интраперитонеальную, внутрилегочную, внутриспинальную, интрастернальную, интратекальную, внутриматочную, внутривенную, субарахноидальную, субкапсулярную, подкожную, чресслизистую или транстрахеальную. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно доставить интраоперационным способом в виде местного введения в течение хирургического вмешательства или резекции.

[0188] Термин «нарушение, зависимое от молекулы-мишени», или «нарушение, связанное с молекулой-мишенью», включает любое нарушение, при котором молекула-мишень играет роль в нарушении сама по себе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения это означает сверхэкспрессию молекулы-мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушения могут включать любые нарушения, которые обсуждаются в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушение может являться любым, для которого существует молекула-мишень, на которую можно нацелиться посредством связывания, и связывание которой приведет к обнаружению и/или к лечению нарушения. Без ограничения, молекула-мишень может представлять собой, например, CD8, CD3, 5T4, ПСМА и/или АСКП.

[0189] Миниантитело представляет собой формат антитела, который характеризуется меньшей молекулярной массой, чем полноразмерное антитело, при сохранении бивалентного свойства связывания с антигеном. Благодаря своему меньшему размеру, отсутствию домена CH2, который связывается с рецепторами Fc-гамма и FcRN, отсутствию гликозилирования миниантитело характеризуется более быстрым клиренсом из системы и потенциально усиленным проникновением при нацеливании на ткань опухоли. Благодаря способности к мощному нацеливанию в сочетании с быстрым клиренсом миниантитело обладает преимуществами для диагностической визуализации и доставки радиоактивных веществ, для которых пролонгированные времена циркуляции могут привести к нежелательному введению доз пациентам или дозиметрии. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитела также могут характеризоваться преимуществом для доставки цитотоксических веществ в связи с вышеуказанными свойствами, такими как проникновение в опухоль и более быстрый клиренс. «Миниантитело», описанное в настоящем документе, включает гомодимер, в котором каждый мономер представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), присоединенный к домену C_H3 IgG человека с помощью последовательности шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело представляет собой бивалентный или биспецифичный ковалентно связанный гомодимер молекулярной массой ~80 кДа. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый мономер (полумолекула) состоит из вариабельного домена тяжелой цепи (V_H), присоединенного к соответствующему вариабельному домену легкой цепи (V_L) посредством линкерной последовательности, обогащенной Gly-Ser, размером приблизительно 15-18 аминокислот.

[0190] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) присоединен к домену C_H3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека последовательностью шарнира.

[0191] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижнаяя шарнирная/удлиняющая последовательность может представлять собой нижний шарнир

нативного IgG1, 2, 3 или 4 и/или $(G_3)S_n$ или $(G_4)S_n$ (n может представлять собой любое количество S; согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения n составляет 1 или 2) и/или отсутствие нижнего шарнира, и/или любую комбинацию аминокислот (не обязательно должны представлять собой G и S). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижнаяя шарнирная / удлиняющая последовательность может содержать GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59).

[0192] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер может представлять собой любой линкер, который будет функционировать. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкерная последовательность может содержать мотив, который представляет собой $(G_3)S_n$ или $(G_4)S_n$ (n может представлять собой любое количество S; согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения n составляет 1 или 2). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер может содержать GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62).

[0193] Фраза «специфично (или селективно) связываются» в контексте описания взаимодействия между антигеном, например, белком, с антителом или полученным из антитела связывающим агентом означает реакцию связывания, которая является определяющей для присутствия антигена в гетерогенной популяции белков и других биологических молекул, например, в биологическом образце, например, крови, сыворотке, плазме или образце ткани. Таким образом, в заданных условиях иммуноанализа согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитела или связывающие агенты с конкретной специфичностью связывания связываются с конкретным антигеном по меньшей мере в два раза выше фона и по существу не связываются в значительном количестве с другими антигенами, присутствующими в образце. Для специфичного связывания с антителом или связывающим агентом в таких условиях может требоваться, чтобы антитело или средство были выбраны на основании их специфичности к конкретному белку. Для выбора антител, специфично иммунореактивных с конкретным белком, можно применять множество форматов иммуноанализа. Например, для выбора антител, специфично иммунореактивных с белком, обычно применяют твердофазные варианты иммуноанализа ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, твердофазный иммуноферментный анализ, см., например, описание форматов иммуноанализа и условий, которые можно применять для определения специфичной иммунореактивности, в руководстве Harlow, E. & Lane D., "Using Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998). Как правило, специфичная или селективная реакция связывания обеспечит сигнал, по меньшей мере в два раза превышающий сигнал фона, и, более часто, по меньшей мере в от 10 до 100 раз превышающий фон.

[0194] Термин «равновесная константа диссоциации (K_D, M)» означает константу скорости диссоциации (k_d, время$^{-1}$), разделенную на константу скорости ассоциации (k_a, время$^{-1}$ M^{-1}). Равновесные константы диссоциации можно измерять с применением любого способа, известного в данной области техники. Антитела согласно настоящему изобретению, как правило, будут характеризоваться равновесной константой диссоциации менее приблизительно 10^{-7} или 10^{-8} M, например, менее приблизительно 10^{-9} M или 10^{-10} M, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения - менее приблизительно 10^{-11} M, 10^{-12} M или 10^{-13} M.

[0195] Термин «выделенный» при применении в отношении нуклеиновой кислоты или белка означает, что нуклеиновая кислота или белок по существу не содержат других компонентов клетки, с которыми они связаны в природном состоянии. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенная нуклеиновая кислота или белок может находиться в сухом виде или в водном растворе. Чистоту и гомогенность можно определить с применением методик аналитической химии, таких как электрофорез в полиакриламидном геле или высокоэффективная жидкостная хроматография. Белок, который представляет собой доминирующую молекулу, присутствующую в препарате, является по существу очищенным. В частности, выделенный ген отделяют от открытых рамок считывания, которые фланкируют ген и кодируют белок, отличный от гена, представляющего интерес. Термин «очищенный» означает, что нуклеиновая кислота или белок приводит к получению по существу одной полосы на электрофоретическом геле. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения это может означать, что нуклеиновая кислота или белок по меньшей мере на 85% чисты, более предпочтительно, по меньшей мере на 95% чисты, и, наиболее предпочтительно, по меньшей мере на 99% чисты от молекул, которые присутствуют в условиях in vivo.

[0196] Термин «нуклеиновая кислота» или «полинуклеотид» означает дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК) или рибонуклеиновые кислоты (РНК) и их полимеры в одно- или двухцепочечной форме. Если конкретно не ограничено, данный термин включает нуклеиновые кислоты, содержащие известные аналоги природных нуклеотидов, которые обладают аналогичными свойствами связывания, что и эталонная нуклеиновая кислота, и метаболизируются способом, аналогичным встречающимся в природе нуклеотидам. Если не указано обратное, конкретная последовательность нуклеиновой кислоты также косвенно включает ее варианты, модифицированные консервативным способом (например, замены вырожденных кодонов), аллели, ортологи, SNP (single nucleotide polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм) и комплементарные последовательности, а также однозначно указанную последовательность. Более конкретно, замены вырожденных кодонов можно обеспечить посредством получения последовательностей, в которых третье положение одного или нескольких выбранных (или всех) кодонов заменено остатками смешанных оснований и/или дезоксиинозиновыми остатками (Batzer, M.A. et al, "Enhanced evolutionary PCR using oligonucleotides with inosine at the 3'-terminus," Nucleic Acid Res, Vol. 19, No. 18, pp. 5081, 1991; Ohtsuka, E. et al, "An alternative approach to deoxyoligonucleotides as hybridization probes by insertion of deoxyinosine at ambiguous codon positions," J. Biol. Chem, Vol. 260, No. 5, pp. 2605-2608, 1985; Rossolini, G.M. et al, "Use of deoxyinosine-containing primers vs degenerate primers for polymerase chain reaction based on ambiguous sequence information," Mol. Cell. Probes, Vol. 8, No. 2, pp. 91-98, 1994).

[0197] Термины «полипептид», «пептид» и «белок» используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения полимера остатков аминокислот. Данные термины применяют в отношении полимеров аминокислот, в которых один или более остатков аминокислот являются искусственным химическим миметиком соответствующей аминокислоты, встречающейся в природе, а также к полимерам аминокислот, встречающихся в природе, и полимеру аминокислот, не встречающихся в природе.

[0198] Термин «аминокислота» означает встречающиеся в природе и синтетические аминокислоты, а также аналоги аминокислот и миметики аминокислот, которые функционируют образом, аналогичным встречающимся в природе аминокислотам.

Встречающиеся в природе аминокислоты являются таковыми, кодируемыми генетическим кодом, а также таковыми аминокислотами, которые были позже модифицированы, например, гидроксипролин, гамма-карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Аналоги аминокислот относятся к соединениям, которые характеризуются той же базовой химической структурой, что и встречающаяся в природе аминокислота, например, альфа-углерод, который связан с водородом, карбоксильная группа, аминогруппа и R-группа, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги содержат модифицированные R-группы (например, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют ту же химическую структуру, как и встречающаяся в природе аминокислота. Миметики аминокислот означают химические соединения, которые характеризуются структурой, отличающейся от общей химической структуры аминокислоты, но которые функционируют сходным образом с встречающейся в природе аминокислотой.

[0199] Термин «консервативно модифицированные варианты» относится к аминокислотным последовательностям и к последовательностям нуклеиновой кислоты. В отношении конкретных последовательностей нуклеиновой кислоты консервативно модифицированные варианты относятся к тем нуклеиновым кислотам, которые кодируют идентичные или по существу идентичные аминокислотные последовательности, или, если нуклеиновая кислота не кодирует аминокислотную последовательность, к по существу идентичным последовательностям. Вследствие вырожденности генетического кода большое количество функционально идентичных нуклеиновых кислот кодирует любой данный белок. Например, кодоны GCA, GCC, GCG и GCU все кодируют аминокислоту аланин. Таким образом, в каждом положении, где кодоном определен аланин, кодон может быть изменен на любой из соответствующих описанных кодонов без изменения кодируемого полипептида. Такие вариации нуклеиновой кислоты представляют собой «молчащие вариации», которые являются видом консервативно модифицированных вариаций. В настоящем документе каждая последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует полипептид, также описывает каждую возможную молчащую вариацию нуклеиновой кислоты. Специалист поймет, что каждый кодон в нуклеиновой кислоте (кроме AUG, который обычно является единственным кодоном для метионина, и TGG, который обычно является единственным кодоном для триптофана) можно модифицировать с получением функционально идентичной молекулы. Соответственно, в каждой описываемой последовательности подразумевается каждая молчащая вариация нуклеиновой кислоты, которая кодирует полипептид.

[0200] Что касается аминокислотных последовательностей, специалист поймет, что индивидуальные замены, делеции и добавления к последовательности нуклеиновой кислоты, пептидной, полипептидной или белковой последовательности, которые изменяют, добавляют или удаляют единичную нуклеиновую кислоту или малый процент аминокислот в кодируемой последовательности, представляют собой «консервативно модифицированный вариант», в котором изменение приводит к замене аминокислоты на химически сходную аминокислоту. В данной области техники хорошо известны таблицы консервативных замен, предоставляющие функционально сходные аминокислоты. Такие консервативно модифицированные варианты добавляются к полиморфным вариантам, межвидовым гомологам и аллелям согласно настоящему изобретению и не исключают их.

[0201] Следующие восемь групп содержат аминокислоты, которые являются консервативными заменами друг для друга: 1) аланин (A), глицин (G); 2) аспарагиновая

кислота (D), глутаминовая кислота (E); 3) аспарагин (N), глутамин (Q); 4) аргинин (R), лизин (K); 5) изолейцин (I), лейцин (L), метионин (M), валин (V); 6) фенилаланин (F), тирозин (Y), триптофан (W); 7) серии (S), треонин (T) и 8) цистеин (C), метионин (M) (см., например, публикацию Creighton, T. E., "Proteins - Structures and Molecular Properties," W.H. Freeman & Co. Ltd., 1984).

[0202] Термин «процент идентичности последовательности» можно определить посредством сравнения двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения, причем часть полинуклеотидной последовательности в окне сравнения может содержать добавления или делеции (то есть «пропуски») по сравнению с эталонной последовательностью (например, полипептидом согласно настоящему изобретению), не содержащей добавлений или делеции, которые используют для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процент вычисляют путем определения количества положений, в которых идентичное основание нуклеиновой кислоты или остаток аминокислоты присутствует в обеих последовательностях, в результате чего получают ряд совпадающих положений, и количество совпадающих положений делят на общее количество положений в окне сравнения, а затем полученный результат умножают на 100 и получают процент идентичности последовательностей.

[0203] Термины «идентичный» или процент «идентичности» в контексте двух или более последовательностей нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей означает две или более последовательностей или субпоследовательностей, которые являются одинаковыми последовательностями. Две последовательности являются «по существу идентичными», если две последовательности содержат определенный процент остатков аминокислот или нуклеотидов, которые являются одинаковыми (например, идентичность последовательности 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% в заданном участке или, если не определено, в целой эталонной последовательности), при сравнении и выравнивании для максимального соответствия в окне сравнения либо обозначенной области, что измеряют с применением одного из следующих алгоритмов сравнения последовательностей или посредством выравнивания вручную и визуального изучения. Некоторые варианты реализации, описанные в настоящем документе, обеспечивают полипептиды или полинуклеотиды, которые являются по существу идентичными полипептидам или полинуклеотидам, соответственно, примеры которых приведены в настоящем документе (например, любая одна или более из вариабельных областей, примеры которых приведены в любой из таблиц 1, 2, 5, 6 или 7 и на ФИГ. 5B-5E, 1C, 7D, 14B, 15B, 16B-16D, 20C-20G, 21B-21E, 22B, 28B-28E, 29B-29D, 32, 33, 35A-35C, 36A-36E, 40-69, 79, 80, и любая одна или более из последовательностей нуклеиновой кислоты, примеры которых приведены на любой из ФИГ. 7E, 34A-34F, 41-46, 48-53, 55-59, 61-64, 65A, 65B и 65C). Необязательно, идентичность существует в пределах области, которая составляет по меньшей мере приблизительно 15, 25 или 50 нуклеотидов в длину или, более предпочтительно, в пределах области, которая составляет от 100 до 500 или 1000 или более нуклеотидов в длину, или в пределах полноразмерной эталонной последовательности. В отношении аминокислотных последовательностей идентичность или существенная идентичность может существовать в пределах области, которая составляет по меньшей мере 5, 10, 15 или 20 аминокислот в длину, необязательно, по меньшей мере приблизительно 25, 30, 35, 40, 50, 75 или 100 аминокислот в длину, необязательно, по меньшей мере приблизительно 150, 200 или 250 аминокислот в длину, или в пределах полноразмерной эталонной последовательности. В отношении более коротких аминокислотных последовательностей, например, аминокислотных

последовательностей из 20 или менее аминокислот, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения существенная идентичность существует, когда один или два остатка аминокислот консервативно заменены в соответствии с консервативными заменами, определенными в настоящем документе.

[0204] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения процент идентичности измеряют в пределах шарнирных областей, указанных в настоящем документе (шарнирная область и/или ее части - верхняя, основная и нижняя шарнирные области). В данных ситуациях процент идентичности шарнирной области или ее части можно идентифицировать отдельно от остальной последовательности белка или нуклеиновой кислоты. Таким образом, две шарнирные области (или верхняя, основная и/или нижняя области) могут содержать указанный процент остатков аминокислот или нуклеотидов, которые являются одинаковыми (например, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности в пределах указанной области или, если не указано, в пределах целой последовательности эталонной последовательности), при этом позволяя оставшейся части белка оставаться на 100% идентичной белку сравнения, или также позволяя оставшейся части белка также содержать вариации с указанным процентом идентичности.

[0205] При сравнении последовательностей, как правило, одна последовательность выступает в качестве эталонной последовательности, с которой сравнивают исследуемые последовательности. При применении алгоритма сравнения исследуемую и эталонную последовательности вводят в компьютер, если необходимо, назначают координаты субпоследовательности и устанавливают параметры алгоритма программы последовательности. Можно использовать параметры программы по умолчанию или можно задать альтернативные параметры. Затем алгоритм сравнения последовательностей вычисляет основанный на параметрах программы процент идентичностей последовательности для исследуемых последовательностей по отношению к эталонной последовательности.

[0206] «Окно сравнения» в настоящем документе включает ссылку на сегмент, состоящий из любого количества смежных положений, который выбран из группы, состоящей из приблизительно из от 20 до 600, как правило, от приблизительно 50 до приблизительно 200, более часто от приблизительно 100 до 150, последовательность которого можно сравнить с эталонной последовательностью из того же количества смежных положений, после того как две последовательности оптимально выровняют. Способы выравнивания последовательностей для сравнения хорошо известны в данной области техники. Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения можно проводить, например, с помощью алгоритма локальной гомологии Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c, с помощью алгоритма выравнивания гомологии Needleman, S.B. et al., "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins," J. Mol. Biol., Vol. 48, No. 3, pp. 443-453, 1970, способом поиска сходства Pearson, W.R. et al., "Improved tools for biological sequence comparison," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 85, No. 8, pp. 2444-2448, 1988, с помощью компьютеризированной реализации данных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA на программном обеспечении Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Мэдисон, Висконсин) или с помощью ручного выравнивания и визуальной инспекции (см., например, публикацию Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement, 1995).

[0207] Двумя примерами алгоритмов, которые подходят для определения процента идентичности последовательностей и подобия последовательностей, являются алгоритмы

BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в публикациях Altschul, S.F. et al., "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs," Nucleic Acids Res., Vol. 25, No. 17, pp. 3389-3402, 1977, и Altschul, S.F. et al., "Basic local alignment search tool," J. Mol. Biol., Vol. 215, No. 3, pp. 403-410, 1990, соответственно. Программное обеспечение для проведения анализа BLAST является общедоступным через Национальный центр биотехнологической информации. Данный алгоритм включает первичную идентификацию пар последовательностей с максимальным сходством (high scoring sequence pairs, HSP) посредством идентификации коротких слов с длиной W в представляющей интерес последовательности, которые либо совпадают, либо удовлетворяют некоторому оцениваемому положительно порогу значения T при выравнивании со словом такой же длины в последовательности из базы данных. T определяют как порог значений для соседних слов (Altschul, S.F. et al, ссылка выше). Данные изначальные совпадения соседних слов выступают в роли затравок для начала поиска для обнаружения более длинных HSP, содержащих их. Поиск совпадений слов распространяется в обоих направлениях вдоль каждой последовательности до тех пор, пока суммарное значение для выравнивания можно увеличить. Для нуклеотидных последовательностей суммарные значения вычисляют с применением параметров M (значение компенсации за пару совпавших остатков; всегда >0) и N (штрафной балл за несоответствие остатков, всегда <0). Для аминокислотных последовательностей с целью вычисления суммарного значения используют оценочную матрицу. Продолжение поиска совпадений слов в каждом направлении останавливают, если: суммарное значение для выравнивания снижается по величине X ниже максимально достижимого значения; суммарное значение снижается до нуля или ниже в связи с накоплением одного или нескольких выровненных остатков с отрицательным значением; или если достигнут конец любой последовательности. Параметры алгоритма BLAST W, T и X определяют чувствительность и скорость выравнивания. В программе BLASTN (для нуклеотидных последовательностей) используют в качестве параметров по умолчанию длину слова (W) 11, ожидаемое значение (E) 10, M=5, N=-4 и сравнение обеих цепей. Для аминокислотных последовательностей в программе BLASTP используют в качестве параметров по умолчанию длину слова 3 и ожидаемое значение (E) 10, и оценочную матрицу BLOSUM62 (Henikoff, S. et al., "Amino acid substitution matrices from protein blocks," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 89, No. 22, pp. 10915-10919, 1992), выравнивание (B) 50, ожидаемое значение (E) 10, M=5, N=-4 и сравнение обеих цепей.

[0208] Алгоритм BLAST также проводит статистический анализ подобия между двумя последовательностями (см., например, публикацию Karlin, S. et al., "Applications and statistics for multiple high-scoring segments in molecular sequences," Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Vol. 90, No. 12, pp. 5873-5787, 1993). Одним показателем подобия, предусматриваемым алгоритмом BLAST, является наименьшая суммарная вероятность (P(N)), которая обеспечивает показатель вероятности, с которой случайно могло бы иметь место соответствие двух последовательностей нуклеотидов или аминокислот. Например, нуклеиновую кислоту считают подобной эталонной последовательности, если наименьшая суммарная вероятность при сравнении исследуемой нуклеиновой кислоты с эталонной нуклеиновой кислотой составляет менее приблизительно 0,2, более предпочтительно, менее приблизительно 0,01 и, наиболее предпочтительно, менее приблизительно 0,001

[0209] Признак того, что две последовательности нуклеиновой кислоты или полипептида являются по существу идентичными, заключается в том, что полипептид, кодируемый первой нуклеиновой кислотой, является иммунологически перекрестно-

реактивным с антителами, наработанными против полипептида, кодируемого второй нуклеиновой кислотой, как описано ниже. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полипептид, как правило, по существу идентичен второму полипептиду, например, если два пептида отличаются только консервативными заменами. Другой признак того, что две последовательности нуклеиновой кислоты по существу идентичны, заключается в том, что две молекулы или их комплементы гибридизуются друг с другом в жестких условиях, как описано ниже. Еще один признак того, что последовательности нуклеиновой кислоты по существу идентичны, заключается в том, что для амплификации последовательностей можно применять одни и те же праймеры.

[0210] Термины «субъект», «пациент» и «индивидуум» взаимозаменяемо означают организм, обследование и/или лечение которого проводят. Данный термин может включать, например, млекопитающее, например, человека или млекопитающего-примата, отличного от человека. Млекопитающее может также представлять собой лабораторное млекопитающее, например, мышь, крысу, кролика, хомяка. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения млекопитающее может представлять собой сельскохозяйственное млекопитающее (например, лошадей, овец, крупный рогатый скот, свиней, верблюдов) или домашнее млекопитающее (например, собак, кошек).

[0211] Термин «совместное введение» означает введение двух активных средств в кровь индивидуума или в образец, исследование которого проводят. Активные средства, которые совместно вводят, можно доставлять одновременно или последовательно.

Антигенсвязывающие конструкции

[0212] В настоящем документе следует принимать во внимание, что последовательности в шарнирной области могут характеризоваться особой значимостью в случае различных антигенсвязывающих конструкций. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения значение шарнирной области может быть в особенности высоким, например, при сборке миниантитела. Последовательности в шарнире могут содержать дисульфидные связи, которые являются благоприятными для функционирования шарнира, но могут приводить к различающимся результатам при их изменении. Как раскрыто в настоящем документе и показано в примерах ниже, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательности шарнирной области можно сконструировать для предотвращения и/или снижения нежелательных перестановок дисульфидов с остатками цистеина, присутствующими в других областях белка, и/или для обеспечения содержания достаточного количества пар цистеинов с целью поддержания целостности димера in vivo, для предотвращения образования конкатемеров и/или обеспечения сайт-специфичной конъюгации с одним из спаренных цистеинов.

[0213] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения стабильность димера миниантитела in vivo можно приписать природным ван-дер-ваальсовым связям между доменами C_H3, образованию дисульфидных связей в шарнирных областях и/или взаимодействиям между V_H и V_L. На сегодняшний день большинство миниантител были сконструированы с применением верхней и основной шарнирной областей IgG1 человека с удлиняющей последовательностью, присоединенной к домену C_H3 IgG1 человека. Помимо вышеуказанных параметров, в настоящем документе предложены и охарактеризованы обе ориентации миниантител (например, варианты V_L-V_H (M1) и V_H-V_L (M2) scFv), поскольку ориентация конструкций

также может изменить их характеристики (как показано в примерах ниже).

[0214] Некоторые предыдущие шарниры (например, шарнир-удлинение hulgG1 или EH1 γ1) содержали нативный hulgG1 в верхнем шарнире (ФИГ. 2). Данный цистеин в положении 245 в контексте IgG1 человека, который был определен согласно Кэботу и отмечен первым кругом, создает проблемы как с гетерогенностью белка, так и со стабильностью в формате миниантитела согласно результатам дисульфидного картирования анализом ЖХ/МС (жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии), ДСН-ПААГ и согласно данным биораспределения in vivo. Как показано в примерах ниже, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения Cys245 можно мутировать на серии, что приводит к получению искусственного шарнира или «шарнира EH2», как описано в настоящем документе. Таким образом, удаление данного цистеина из цепи (как показано в примерах ниже) привело к улучшению шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полученная в результате конструкция (в которой отсутствует первый цистеин в шарнирной области) является недостаточно жесткой для поддержания стабильности димера миниантитела in vivo с двумя оставшимися дисульфидными мостиками (в отношении EH/EH2 γ1). Таким образом, как показано в примерах ниже, для получения улучшенной конструкции можно осуществить введение третьего или последующих цистеинов на цепь (например, в основной области). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения введение $3^{его}$ (или последующих) цистеина в шарнире (дополнительный цистеин в нативном шарнире IgG1, на цепь) увеличивает образование дисульфидной связи и увеличивает стабильность белка. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения добавленная стабильность, предоставляемая посредством дисульфидных связей в шарнирной области, обеспечивает сайт-специфичную конъюгацию с одним или более чем одним цистеином с сохранением интактного димера. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитела IAB2M, 20M, 1M и IAB22M huIgG2 содержат шарнирную/удлиняющую последовательность IgG2 человека (huIgG2), присоединенную к домену C_H3 huIgG2. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения домен C_H3 может представлять собой домен C_H3 huIgG2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения для образования дисульфидной связи можно применять любой вариант создания ковалентной связи между двумя цепями пептида вместо цистеинов.

[0215] В настоящей заявке, когда упоминается введение цистеина (если не указано обратное), это означает введение цистеина на цепь шарнира (который содержит две цепи). Таким образом, 3, 4, 5 или 6 цистеинов в цепи будет означать 6, 8, 10 или 12 цистеинов в шарнире и 3, 4, 5 или 6 возможных присутствующих дисульфидных связей (разумеется, если не указано, количество дисульфидных связей может быть отличным, поскольку некоторые из цистеинов можно использовать для меток и других применений).

[0216] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир/удлинение IgG2 - EH1 γ2 привел к увеличению агрегации, поскольку реактивный первый цистеин шарнира отвечал за образование конкатемеров в формате IAB2M-EH1 γ2. Согласно таким вариантам реализации настоящего изобретения можно применять нативный верхний шарнир huIgG2.

[0217] Затем вышеуказанные аспекты учитывали при разработке второй конфигурации некоторых вариантов реализации конструкции шарнира. В данной второй структуре первый цистеин шарнира (который в нативном антителе образует пару с

легкой цепью каппа) мутировали на серии с получением EH2 IgG2 (EH2 γ2). Данная конструкция хорошо экспрессировалась и обладала хорошей стабильностью in vivo, содержала все 3 дисульфидные связи, образованные надлежащим образом, что подтверждалось анализом интактной массы, и обладала стабильностью, продемонстрированной обеими конструкциями IAB2M и IAB22M (как показано в примерах ниже). Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем документе предложен искусственный или модифицированный шарнир IgG2, в котором был изменен первый цистеин и который обеспечивает улучшенную конструкцию миниантитела.

[0218] Как показано в примерах ниже, результаты продемонстрировали, что для предотвращения неправильного спаривания цистеина было благоприятно мутировать первый цистеин шарнира в шарнирах IgG1 и IgG2. Как показано в примерах ниже, результаты продемонстрировали, что для поддержания структурной целостности белка было благоприятно иметь более 2 остатков цистеина в основной шарнирной области на цепь. Как показано в примерах ниже, результаты продемонстрировали, что шарнир IgG2 обеспечивает одно из возможных решений для увеличения стабильности in vivo. Таким образом, в настоящем изобретения предложены антигенсвязывающие конструкции с более высокой стабильностью in vivo, такие как миниантитела.

[0219] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять шарнир IgG2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять шарнир IgG2, в котором мутирован первый цистеин шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения мутация концевого лизина (K) в конструкциях MA не влияет на экспрессию белка, но позволяет получить белок с более однородным зарядом.

[0220] Как обсуждается в примерах, оценивали дополнительные варианты MA на основе последовательностей верхнего шарнира IgG3 и модифицированного основного шарнира IgG1, в которых в основной шарнирной области присутствовали по меньшей мере 3 остатка цистеина на цепь. Как указано в примерах ниже, оценивали конструкции IAB2M, IAB22M и IAB20M, чтобы продемонстрировать универсальность результатов среди различных конструкций, имеющих различные ориентации и различные мишени. Результаты свидетельствуют, что преимущества, описанные в настоящем документе относительно раскрытых в настоящей заявке шарниров, будут доступны и применимы к любым без исключения антигенсвязывающим конструкциям и, в частности, к миниантителам.

[0221] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарниры могут представлять собой пептидные шарниры и/или последовательности нуклеиновой кислоты, которые кодируют пептидные шарниры. Все обсуждения относительно пептидной формы шарниров, приведенные в настоящем изобретении, также означают соответствующие структуры и функции для последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих пептиды. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарниры могут быть введены в антигенсвязывающую конструкцию, такую как антитело, такое как миниантитело. Любой шарнир или часть шарнира (такая как верхняя шарнирная, основная шарнирная и/или нижняя шарнирная область) могут быть введены в любую из антигенсвязывающих конструкций, описанных в настоящем документе, включая, без ограничения, таковые в таблицах 1, 2, 5, 6 или 7 и на ФИГ. 5B-5E, 7C, 7D, 14B, 15B, 16B-16D, 20C-20G, 21B-21E, 22B, 28B-28E, 29B-29D, 32, 33, 35A-35C, 36A-36E, 40-69, 79, 80, и в любую одну или более из последовательностей нуклеиновой кислоты, примеры которых приведены на любой из ФИГ. 7E, 34A-34F,

41-46, 48-53, 55-59, 61-64, 65A, 65B и 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир может содержать любую одну или более последовательностей или частей, представленных в таблице 1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из нижних шарниров может затем быть присоединен напрямую или опосредованно к домену C_H3.

ТАБЛИЦА 1

Варианты шарнира (ФИГ. 38)

Полный шарнир	Верхний шарнир	Основный шарнир	Нижний шарнир
NH1 IgG1 человека (SEQ ID NO: 21)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH1 IgG1 человека (SEQ ID NO: 22)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH2 IgG1 человека (SEQ ID NO: 23)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH2 IgG1 человека (SEQ ID NO: 24)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH3 IgG1 человека (SEQ ID NO: 25)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH3 IgG1 человека (SEQ ID NO: 26)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH4 IgG1 человека (SEQ ID NO: 27)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH4 IgG1 человека (SEQ ID NO: 28)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH5 IgG1 человека (SEQ ID NO: 29)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH5 IgG1 человека (SEQ ID NO: 30)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH1 IgG2 человека (SEQ ID NO: 31)	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)
EH1 IgG2 человека (SEQ ID NO: 32)	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH2 IgG2 человека (SEQ ID NO: 33)	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)
EH2 IgG2 человека (SEQ ID NO: 34)	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
EH6 IgG3/IgG1 (SEQ ID NO: 35)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CVECPPC (SEQ ID NO: 57)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
EH7 IgG3/IgG1 (SEQ ID NO: 36)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
EH8 IgG3/IgG1 (SEQ ID NO: 37)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH IgG4 (SEQ ID NO: 38)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 49)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APEFLGGP (SEQ ID NO: 61)
EH IgG4 (SEQ ID NO: 39)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 49)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

[0222] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир содержит, состоит из или состоит по существу из любой из последовательностей таблицы 1 выше. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир состоит из каждой из указанных верхней, основной и нижней шарнирной области таблицы 1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любая из вышеуказанных частей (такая как верхний, основный и/или нижний шарнир) может также быть предложена в виде ее варианта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения варианты обладают существенной идентичностью с вышеуказанными последовательностями. Согласно некоторым вариантам реализации

настоящего изобретения варианты отличаются на одну, две или три аминокислоты от последовательностей, представленных выше. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения варианты отличаются на одну, две или три аминокислоты от последовательностей, представленных выше, и отличия представляют собой консервативные отличия.

[0223] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения мотив CPPC (SEQ ID NO: 50) в основной области можно заменить на любой другой эффективный основный мотив, при условии, что количество и/или эффективность ковалентных связей, представленных в таблице выше, изменена надлежащим образом.

[0224] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена пептидная шарнирная область для антитела. Шарнирная область может содержать верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой. Аминокислотная шарнирная область может также содержать основную шарнирную область, присоединенную с С-конца к верхней шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения основная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на каждой стороне шарнира (то есть, по меньшей мере шесть цистеинов для собранной структуры). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит нижнюю шарнирную область или удлиняющую область, присоединенную с С-конца к основной шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижняя шарнирная область или удлиняющая область может содержать по меньшей мере одну последовательность из: APPVAGP (SEQ ID NO: 60), APELLGGP (SEQ ID NO: 58) или GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59).

[0225] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения верхняя шарнирная область не содержит цистеинов, которые образуют поперечные сшивки с верхней шарнирной областью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения верхняя шарнирная область не содержит цистеинов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит нижнюю шарнирную область. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные конструкции являются не встречающимися в природе конструкциями.

[0226] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен вариант шарнирной области миниантитела. Вариант шарнирной области миниантитела содержит первое измененное положение аминокислоты. Первое измененное положение аминокислоты представляет собой аминокислоту, которая в шарнире нативного антитела представляла бы собой цистеин, и была изменена в первом измененном положении так, что она не образует дисульфидной связи. Вариант шарнирной области миниантитела дополнительно содержит по меньшей мере три цистеина на цепь, С-концевых относительно первого измененного положения аминокислоты. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения может присутствовать 4, 5, 6 или более цистеинов на цепь, С-концевых относительно первого измененного положения аминокислоты. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные дополнительные цистеины полностью содержатся в основной области шарнира (разумеется, основный шарнир может быть модифицированным и может простираться за пределы последовательностей дикого типа, в результате чего можно добавить дополнительные цистеины). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область состоит

из SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения SEQ ID NO: 1 представляет собой основную шарнирную область, и основная шарнирная область по существу состоит из SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения основная шарнирная область состоит из SEQ ID NO: 1. В описании, представленном выше, количество цистеинов относится к количеству цистеинов в одной шарнирной области пептидной цепи. Следует понимать, что количество цистеинов в димерной форме шарнира (в которой пептидные цепи перекрестно присоединены друг к другу) будет в два раза большим, поскольку каждый из указанных цистеинов является частью дисульфидной связи, в образовании которой участвуют два цистеина.

[0227] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкции МА содержат антигенсвязывающие scFv с варьирующими длинами линкера, которые могут находиться в VL-VH или VH-VL ориентации. Любое раскрытие в настоящем документе относительно одной ориентации, также включает противоположную ориентацию и обе ориентации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любую последовательность шарнира, описанную в таблице 1, можно добавить к scFv с С-конца. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой домен CH3 из антител IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 можно добавить к scFv и соответствующим шарнирам с С-конца. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения для обеспечения соответствующего образования дисульфидной связи первый цистеин шарнира (цистеин, который обычно образует пару с легкой цепью в нативных антителах IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) мутирован на серин или аланин или другую соответствующую аминокислоту для предотвращения перестановок дисульфидов и/или конкатемеризации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения для снижения присутствия или предотвращения образования полумолекул и обеспечения оптимальной стабильности in vivo шарнирная область может содержать по меньшей мере 3 дисульфидные связи, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область может содержать большее количество дисульфидных связей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в шарнире присутствуют по меньшей мере 3 дисульфидные связи, расположенные на соответствующих расстояниях друг от друга, которые введены для предотвращения ненадлежащего образования дисульфидных связей и обеспечения надлежащего образования дисульфидных связей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения 3 дисульфидные связи в шарнире расположены на соответствующих расстояниях друг от друга и введены для обеспечения стабильности белка in vivo и клиренса через печень вместо клиренса через почки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в шарнире обеспечены по меньшей мере 3 дисульфидные связи (например, 4 или более) с применением цистеина в качестве основы, с последующим мягким восстановлением дисульфидов, лекарственных средств, хелаторов металлов, радионуклидов, радиоактивных изотопов, сайт-специфичной конъюгацией хелатора, а затем - с присоединением радиоактивного изотопа к хелатору, или с присоединением флуоресцентных красителей с применением цистеина в качестве участка присоединения. Как понимает специалист в данной области техники, присутствие каждой единичной дисульфидной связи свидетельствует о присутствии двух цистеинов, по одному на каждой пептидной последовательности шарнира.

[0228] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения МА конструируют так, чтобы они содержали любые компоненты шарнира, описанные в

настоящем документе, и сохраняли аналогичную (или одинаковую) аффинность родительских антител. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения МА, сконструированные, как описано выше, могут быть разработаны для содержания двух различных антигенсвязывающих доменов.

[0229] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения превосходящие шарниры для антигенсвязывающих конструкций можно получить посредством удаления первого цистеина в шарнирной области, как указано в таблице 1 выше и в примерах ниже. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно обеспечить шарнирную область, в которой данный цистеин (который в противном случае присутствует в природном шарнире) удален или заменен другим остатком (например, остатком, который не может образовывать ковалентной связи). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данную корректировку проводят в контексте IgG1 человека или любой другой шарнирной области, которая содержит цистеин в указанном положении в таблице 1 (например, EH1 γ2, измененный на EH2 γ2 (Cys на Ser), и NH1 γ2, измененный на NH2 γ2 (Cys на Ser)).

[0230] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена аминокислотная шарнирная область, которая содержит последовательность SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$). X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n2} представляет собой любую аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V. X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту. X_{n4} представляет собой любую аминокислоту. X_{n5} представляет собой любую аминокислоту. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} содержит серин или аланин (SEQ ID NO: 235). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} содержит серин (SEQ ID NO: 210). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} содержит аланин (SEQ ID NO: 211). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} содержит T (SEQ ID NO: 236). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый цистеин в SEQ ID NO: 1, который изменен, представляет собой цистеин в домене γ2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит дополнительные аминокислоты перед SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$).

[0231] Согласно некоторым вариантам реализации $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (SEQ ID NO: 1) X_{n1} не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой аминокислотой (SEQ ID NO: 191). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} не представляет собой цистеин (SEQ ID NO: 192). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n1} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V (SEQ ID NO: 193). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n2} представляет собой P, V или E (SEQ ID NO: 194). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n4} представляет собой P, V или E (SEQ ID NO: 196). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n4} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 197). Согласно

некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n2} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 195). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n3} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 198). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n5} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 199). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 X_{n3} представляет собой P или E, и X_{n5} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 237). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE (SEQ ID NO: 201). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой PP (SEQ ID NO: 202). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой VE (SEQ ID NO: 203). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой PP (SEQ ID NO: 204). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE, и $X_{n4}X_{n5}$ представляет собой PP (SEQ ID NO: 205). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE или PP (SEQ ID NO: 238). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 1 $X_{n2}X_{n3}$ представляет собой VE (SEQ ID NO: 239).

[0232] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любая из вышеуказанных шарнирных областей также содержит нижнюю шарнирную или удлиняющую последовательность, C-концевую относительно последнего цистеина в $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (SEQ ID NO: 1). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять любую нижнюю шарнирную область. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любая из вышеуказанных шарнирных областей также содержит удлиняющую или нижнюю шарнирную последовательность, C-концевую относительно последнего цистеина в $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (SEQ ID NO: 1).

[0233] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область SEQ ID NO: 1 и/или 2 представляет собой основную шарнирную область. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир дополнительно содержит верхнюю шарнирную область, примыкающую к основной шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир дополнительно содержит нижнюю шарнирную область или удлиняющую область, примыкающую к основной шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит верхнюю шарнирную область, примыкающую к основной шарнирной области.

[0234] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область содержит следующую последовательность: SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область содержит следующую последовательность: ERKSCVECPPCP (SEQ ID NO: 167). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область содержит следующую последовательность: EPKSSDKTHTCPPCPPC (SEQ ID NO: 168). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34) или ERKSCVECPPCPAPPVAGP (SEQ ID NO: 33). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере TCPPCPPC (SEQ ID NO: 166). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26) или EPKSSDKTHTCPPCPPCAPELLGGP (SEQ ID NO: 25).

[0235] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения превосходящие шарниры могут быть обеспечены посредством удаления цистеина шарнира, который отвечает за присоединение тяжелой и легкой цепей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, соответственно, представленных в таблице 1 и 7 (например, EH1 γ1 - EH2 γ1). Более того, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения применение основной области с по меньшей мере тремя цистеинами (например, EH3 γ1, EH4 γ1 и EH5 γ1) на цепь может привести к получению превосходящих конструкций. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир может быть обеспечен посредством удаления цистеина из верхней шарнирной области, представленной в таблице 1 и 7 (например, EH1 γ1 - EH2 γ1).

[0236] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения такие конструкции могут быть описаны как аминокислотная шарнирная область, содержащая последовательность SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} представляет собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой аминокислотой, где X_{n2} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n3} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n4} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n5} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n6} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n7} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n8} представляет собой любую аминокислоту, где X_{n9} представляет собой любую аминокислоту, и где X_{n10} представляет собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 240).

[0237] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения такие конструкции могут быть описаны как аминокислотная шарнирная область, содержащая последовательность SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, отличную от цистеина, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 241).

[0238] Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n1} не представляет собой цистеин (SEQ ID NO: 213). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n1} представляет собой серин или аланин (SEQ ID NO: 242). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n2} не представляет собой цистеин (SEQ ID NO: 214). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n2} представляет собой D (SEQ ID NO: 215). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n3} представляет собой K (SEQ ID NO: 216). Согласно некоторым вариантам реализации

SEQ ID NO: 2 X_{n4} представляет собой T (SEQ ID NO: 217). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n5} представляет собой H (SEQ ID NO: 218). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n6} представляет собой T (SEQ ID NO: 219). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n7} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 220). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n8} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 221). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n9} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 222). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n10} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 223). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n2} представляет собой D, X_{n3} представляет собой K, X_{n4} представляет собой T, X_{n5} представляет собой H, X_{n6} представляет собой T, X_{n7} представляет собой P или V, X_{n8} представляет собой P или E, и X_{n9} представляет собой P или V (SEQ ID NO: 243).

[0239] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит последовательность $X_{n11}X_{n12}C$ Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данная последовательность может быть непосредственно присоединена к C-концевому цистеину в SEQ ID NO: 1 (SEQ ID NO: 244) или SEQ ID NO: 2 (SEQ ID NO: 245). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n11} может представлять собой любую аминокислоту, и X_{n12} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 245). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n11} представляет собой P или V, и причем X_{n12} представляет собой P или E (SEQ ID NO: 246). Согласно некоторым вариантам реализации SEQ ID NO: 2 X_{n1} представляет собой серин, X_{n2} представляет собой D, X_{n3} представляет собой K, X_{n4} представляет собой T, X_{n5} представляет собой H, X_{n6} представляет собой T, X_{n7} представляет собой P, X_{n8} представляет собой P, X_{n9} представляет собой P, и X_{n10} представляет собой P (SEQ ID NO: 247).

[0240] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любым шарнирным последовательностям может предшествовать любое количество начальных аминокислот. Таким образом, к молекуле можно добавить дополнительные линкеры или спейсеры из аминокислот перед указанной последовательностью (такой как SEQ ID NO: 1 и/или NO: 2). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения за любыми последовательностями шарнира может следовать любое количество дополнительных аминокислот. Таким образом, к молекуле можно добавить дополнительные линкеры или спейсеры аминокислот после указанной последовательности (такой как SEQ ID NO: 1 и/или NO: 2).

[0241] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: CPPCPPC (SEQ ID NO: 52), CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей: ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34), EPKSSDKTHTCPPCPPC (SEQ ID NO: 168), EPKSSDKTHTCPPCVECPPC (SEQ ID NO: 169) или EPKSSDKTHTCPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 170). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область содержит по меньшей мере одну из следующих последовательностей:

EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26),
EPKSSDKTHTCPPCVECPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 28) или
EPKSSDKTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 30).

[0242] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижняя шарнирная область/последовательность может представлять собой удлиняющую последовательность (например, 8-25 аминокислот, например, 8-20, 10-25, 10-22, 12-20, 14-16, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислот). Примеры нижнего шарнира представлены в таблице 1 и таблице 7. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижний шарнир может представлять собой нативный нижний шарнир из γ1, γ2, γ3 или γ4. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно иметь последовательность нативного шарнира и добавить одну или более спейсерных аминокислот (например, 1, 2, 3, 4 или более аминокислот, таких как G или S).

[0243] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аминокислотная шарнирная область содержит последовательность основного шарнира согласно по меньшей мере одной последовательности из: CVECPPCP (SEQ ID NO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52), CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54) или CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53), присоединенную к последовательности верхнего шарнира ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48) или EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46).

[0244] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из вариантов реализации, описанных в настоящем документе, может быть модифицирован или дополнен любым одним или несколькими из следующих вариантов.

[0245] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина (на каждой цепи, всего по меньшей мере 6 цистеинов между двумя цепями в димерной шарнирной конструкции). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область содержит по меньшей мере четыре цистеина (на каждой цепи). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область содержит по меньшей мере пять цистеинов (на каждой цепи). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения присутствуют 6, 7, 8, 9, 10 или более цистеинов (на каждой цепи). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнирная область в целом содержит вышеуказанное количество цистеинов (на каждой цепи и/или в димерной конструкции). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения все из указанных цистеинов присутствуют в основной шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения все из указанных цистеинов присутствуют в основной шарнирной области, и в верхней шарнирной области и/или нижней шарнирной области отсутствуют дополнительные цистеины. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения цистеины распределены на протяжении аминокислотной шарнирной области в повторяющемся мотиве «CXX» (таком как CXXCXXCXX (SEQ ID NO: 171), или CXXCXX (SEQ ID NO: 172), или CXXCXXCXXCXX (SEQ ID NO: 173). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения цистеины распределены на протяжении основной шарнирной области в повторяющемся мотиве CXX. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения мотив повторяется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более раз. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый X может представлять собой P, V или E (SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X не представляет собой цистеин (SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 249, SEQ

ID NO: 250).

[0246] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения основная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина на цепь, образующих по меньшей мере три дисульфидные связи в основной шарнирной области. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкции экспрессируются намного лучше в клетках млекопитающих и позволяют получить более высокие титры, а также низкий уровень агрегации и более однородный продукт. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый из цистеинов, присутствующих в основной шарнирной области, может образовать дисульфидную связь с соответствующим цистеином на его спаренной цепи в шарнире. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения дисульфидная связь образована между соответствующими цистеинами на двух отдельных цепях белка, каждая из которых является шарнирной областью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образованы по меньшей мере 3 дисульфидные связи, например, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способны образоваться по меньшей мере 3 дисульфидные связи, например, в структуре могут образоваться одновременно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более дисульфидных связей.

[0247] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый остаток основной шарнирной области представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения основная шарнирная область содержит SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56).

[0248] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения домен C_H3 любой конструкции может быть из γ1, γ2 или γ3 и их любых встречающихся в природе аллелей. В настоящем документе «γ» является сокращенным обозначением гамма.

[0249] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения удлинение или нижняя шарнирная область содержит по меньшей мере одну аминокислоту из S, G, A, P или V. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения удлиняющая последовательность содержит по меньшей мере GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения удлинение или нижняя шарнирная область содержит по меньшей мере APPVAGP (SEQ ID NO: 60). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижняя шарнирная область содержит по меньшей мере одну последовательность из: GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59) или APPVAGP (SEQ ID NO: 60). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нижняя шарнирная последовательность может представлять собой линкер GS, удлиняющую последовательность и/или любую нативную нижнюю шарнирную область из γ1, γ2, γ3 и γ4.

Свойства

[0250] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарниры, описанные в настоящем документе, могут обеспечить меньший процент образования и/или присутствия полумолекул в композиции любого миниантитела или другой антигенсвязывающей конструкции. Например, менее 7% композиции может представлять собой полумолекулу, включая диапазоны, такие как менее 6, 5, 4, 3, 2, 1 и/или 0,5% композиции, представляющие собой полумолекулу.

[0251] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, когда шарнир расположен в миниантителе и когда миниантитело вводят субъекту-человеку, клиренс миниантитела из субъекта может осуществляться через печень и/или почки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клиренс через

печень составляет по меньшей мере 10% или более, например, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 99 или 100%. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения при расположении в миниантителе, и когда миниантитело вводят субъекту-человеку, клиренс миниантитела из субъекта может осуществляться преимущественно через почки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения по меньшей мере в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 раз больше или более антитела выводится через почки.

[0252] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в композиции миниантитела наблюдается менее 30% агрегации миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в композиции миниантитела наблюдается менее 20% агрегации миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в композиции миниантитела наблюдается менее 10% агрегации миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в композиции миниантитела наблюдается менее 5% агрегации миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в композиции миниантитела наблюдается менее 1% агрегации миниантитела.

[0253] Если миниантитело остается в сосудистом русле in vivo в виде димера, клиренс белка, как прогнозируют, будет осуществляться преимущественно через печень. Напротив, если присутствует полумолекула, ее клиренс будет осуществляться через почки. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вышеуказанные аспекты клиренса являются способом характеризации количества полученных в результате полумолекул, присутствующих у субъекта in vivo, что позволяет определить, остается ли целая введенная молекула целой молекулой in vivo либо расщепляется на полумолекулы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения композиция миниантитела является таковой, в которой уровень клиренса через печень является относительно высоким по сравнению с клиренсом через почки, и поглощение миниантител опухолью является относительно высоким. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соотношение клиренса через почки к клиренсу через печень составляет менее 1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения через печень осуществляется по меньшей мере на 1% больше поглощения, чем через почки, например, по меньшей мере на 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 80, 90, 100 или более поглощения осуществляется через печень, чем через почки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соотношение поглощения через почки к поглощению через печень составляет 0,9:1, 1:10, 1:100, 1:000, 1:10000 и т.д. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения различные шарнирные конструкции, описанные в настоящем документе, характеризуются меньшим уровнем клиренса через почки, чем шарнир EH1 из IgG1.

[0254] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения мутация первого цистеина шарнира на серин в шарнирной области IgG1 (EH2 γ1) для предотвращения нежелательного взаимодействия с другим неспаренным цистеином позволяет получить белок с лучшим профилем in vitro. Однако высокий уровень клиренса через почки по сравнению с печенью может свидетельствовать о нестабильности белка и диссоциации на полумолекулы in vivo. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены миниантитела, содержащие шарнир IgG2, в которых первый цистеин шарнира мутирован на серин (EH2 γ2 и другие) и которые обладают свойством выводиться через печень, что, согласно прогнозу, соответствует белкам с молекулярной массой приблизительно 80 кДа. Это свидетельствует, что молекула остается интактной in vivo. Согласно некоторым вариантам реализации

настоящего изобретения молекула остается интактной в течение 48 часов или дольше.

[0255] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция шарнира, описанная в настоящем документе, содержит менее 9% полумолекул, присутствующих в связи с неспаренным первым цистеином шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир IgG2 с первым цистеином, замененным на серин, содержит более 99% интактного димера белка, такой как таковой с EH2 γ2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вариант шарнира γ2 приводит к меньшему уровню поглощения почками. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения MA, сконструированное с шарниром huIgG1 (EH1 γ1), быстро выводится через почки с получением низкого уровня нацеливания на опухоль. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения MA, сконструированное с вариантами шарнира huIgG2, удлиненным шарниром (EH2 γ2) или природным шарниром (NH1 γ2), демонстрирует большую стабильность in vivo с высоким уровнем нацеливания на опухоль и меньшим уровнем почечного клиренса.

[0256] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитела γ1 с шарниром EH2 надлежащим образом собираются в интактные димерные молекулы, но добавление всего 2 цистеинов приводит к получению белка с высоким количеством полумолекул. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитела γ1 с шарниром EH3 надлежащим образом собираются в интактные димерные молекулы, и добавление $3^{его}$ цистеина на цепь приводит к получению белка с очень низкими уровнями полумолекул. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения уровень полумолекул составляет менее 15%, например, присутствует менее 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или менее 1% полумолекул.

[0257] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения даже если шарнирная область была изменена и отличается от таковой, описанной ранее, CDR, V_H/V_L или полные аминокислотные последовательности миниантител все еще связываются с молекулой-мишенью с той же аффинностью, что и антитело (такое как миниантитело) с предыдущим типом шарнира. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения присутствие шарнира, описанного в настоящем документе, не изменяет или отрицательно не влияет на аффинность связывания антигенсвязывающей конструкции, все еще обеспечивая одно или более преимуществ и/или структур, описанных в настоящем документе.

[0258] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено миниантитело, содержащее последовательность $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$ (SEQ ID NO: 3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения SEQ ID NO: 3 расположена в виде основной шарнирной области миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту или отсутствие аминокислоты, X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} не может представлять собой цистеин, X_{n2} не может представлять собой цистеин, X_{n3} не может представлять собой цистеин, X_{n4} не может представлять собой цистеин, и/или X_{n5} не может представлять собой цистеин (SEQ ID NO: 251).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} представляет собой любую аминокислоту, отличную от цистеина (SEQ ID NO: 229). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} представляет собой серин (SEQ ID NO: 230).

[0259] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено миниантитело, содержащее последовательность $X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}CX_{n6}$ (SEQ ID NO: 4). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения SEQ ID NO: 4 расположена в виде основной шарнирной области миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту или отсутствие аминокислоты, X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 252). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} не может представлять собой цистеин, X_{n2} не может представлять собой цистеин, X_{n3} не может представлять собой цистеин, X_{n4} не может представлять собой цистеин, и/или X_{n5} не может представлять собой цистеин (SEQ ID NO: 253). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} представляет собой любую аминокислоту, отличную от цистеина (SEQ ID NO: 254). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n1} представляет собой серин (SEQ ID NO: 255). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, отсутствие аминокислоты или P (SEQ ID NO: 256).

[0260] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, находятся в антителе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, находятся в связывающем фрагменте антитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, находятся в миниантителе.

[0261] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, находятся в моноспецифичном антителе.

[0262] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, находятся в биспецифичном антителе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, сконструированы в соотношении 1:1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из аминокислотных шарнирных областей или полных шарниров, описанных в настоящем документе, являются частью фрагмента антитела, которое является биспецифичной конструкцией. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичное антитело представляет собой миниантитело.

Специфичные антигенсвязывающие конструкции

[0263] В настоящем документе описаны антигенсвязывающие конструкции, которые

связываются с мишенью. Антигенсвязывающая конструкция представляет собой молекулу, которая содержит одну или более частей иммуноглобулина или родственной иммуноглобулину молекулы, которая специфично связывается с молекулой-мишенью или является иммунологически реактивной с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые варианты реализации шарнира, описанные в настоящем документе, можно применять в отношении любой целевой антигенсвязывающей конструкции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые варианты реализации шарнира, описанные в настоящем документе, можно применять в отношении миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые варианты реализации шарнира, описанные в настоящем документе, можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Неограничивающий вариант реализации антигена ПСМА представлен на ФИГ. 70. Неограничивающий вариант реализации антигена АСКП представлен на ФИГ. 71. Неограничивающий вариант реализации антигена 5T4 представлен на ФИГ. 72. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигена CD8 представлены на ФИГ. 73 и 74. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигена CD3 представлены на ФИГ. 75-78. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые варианты реализации шарнира, описанные в настоящем документе, можно применять в отношении миниантитела, которое специфично и/или селективно связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые варианты реализации шарнира, представленные в таблицах 1 или 7, можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации полного шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации верхнего шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации основного шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации нижнего шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации верхнего и основного шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации основного и нижнего шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из вариантов реализации верхнего и нижнего шарнира можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3 5T4, АСКП или ПСМА.

[0264] Дополнительные фрагменты антитела, такие как миниантитела, приведены ниже. Фрагменты антитела можно применять, например, для визуализации или терапевтических целей. Схематическое представление иллюстративных миниантител изображено на фигурах и/или представлено в таблице 2 ниже (в ориентации M1 или ориентации M2).

ТАБЛИЦА 2

Миниантитела (от N-конца к С-концу) – структурная ориентация M1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Название	**Сигнальный пептид**	**Область 1**	**Линкер**	**Область 2**	**Полный шарнир**			**Остальная часть**
					Верхний шарнир	**Основный шарнир**	**Нижний шарнир**	
IAB2MEH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18АК (аминокислот) (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
		V_L	18АК	V_H	(SEQ ID NO: 24)			

IAB2M EH2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	(SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 62)	(SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB2M EH1 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 32)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 55)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH1 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 32)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 55)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M 1 EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M NH1 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 31)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 55)	(SEQ ID NO: 60)	
IAB22M NH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 33)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 60)	
IAB22M EH3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH5 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 30)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
		V_L	18AK	V_H	(SEQ ID NO: 35)			

IAB22M EH6 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	(SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 62)	(SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 57)	(SEQ ID NO: 59)	Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB22M EH7 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 36)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH8 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 37)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH5 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 30)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH6 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 35)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 57)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH7 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 36)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M-EH8 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 37)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 15)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 13)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 17)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 18)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 17)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 18)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	

IAB20M EH5 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 17)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 18)	(SEQ ID NO: 30)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB1M EH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 67)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 68)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB1M EH2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 67)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 68)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB1M EH3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 67)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 68)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 17)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 18)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 17)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 18)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26S, L28A, M57V IgG2 (SEQ ID NO: 181)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 17)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 18)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26W IgG2 (SEQ ID NO: 182)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB25M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 19)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 20)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB25M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 19)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 20)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26S, L28A, M57V IgG2 (SEQ ID NO: 181)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB25M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_L (SEQ ID NO: 19)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_H (SEQ ID NO: 20)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26W IgG2 (SEQ ID NO: 182)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	

ПРОДОЛЖЕНИЕ ТАБЛИЦЫ 2

Миниантитела (от N- к C-концу) – структурная ориентация M2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Название	**Сигнальный пептид**	**Область 1**	**Линкер**	**Область 2**	**Полный шарнир**			**Остальная часть**
					Верхний шарнир	**Основный шарнир**	**Нижний шарнир**	
IAB2M EH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH1 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 32)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 55)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH1 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 32)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 55)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M1 EH2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M NH1 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 31)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 55)	(SEQ ID NO: 60)	
		V_H	18AK	V_L	(SEQ ID NO: 33)			

IAB22M NH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	(SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 62)	(SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 60)	Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
IAB22M EH 3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH 5 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 30)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH6 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 35)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 57)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH7 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 36)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH8 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 37)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH5 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 30)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH6 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 35)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 57)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH7 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 36)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB2M EH8 γ3/γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 14)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 37)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB22M EH 2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 16)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 15)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
		V_H	18AK	V_L	(SEQ ID NO: 22)			

IAB20M EH 1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	(SEQ ID NO: 14)	(SEQ ID NO: 62)	(SEQ ID NO: 13)	(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB20M EH 3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 18)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 17)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH 2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 18)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 17)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH 5 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 18)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 17)	(SEQ ID NO: 30)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 54)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB1M EH1 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 68)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 67)	(SEQ ID NO: 22)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB1M EH2 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 68)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 67)	(SEQ ID NO: 24)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 50)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB1M EH3 γ1	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 68)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 67)	(SEQ ID NO: 26)			Домен CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
					(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 52)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 18)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 17)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 18)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 17)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26S, L28A, M57V IgG2 (SEQ ID NO: 181)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB20M EH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 18)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 17)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26W IgG2

					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	(SEQ ID NO: 182)
IAB25M EH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 20)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 19)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB25M EH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 20)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 19)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26S, L28A, M57V IgG2 (SEQ ID NO: 181)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	
IAB25M EH 2 γ2	(SEQ ID NO: 69)	V_H (SEQ ID NO: 20)	18AK (SEQ ID NO: 62)	V_L (SEQ ID NO: 19)	(SEQ ID NO: 34)			Домен CH3 T26W IgG2 (SEQ ID NO: 182)
					(SEQ ID NO: 47)	(SEQ ID NO: 56)	(SEQ ID NO: 59)	

[0265] В таблице 2 представлена компоновка последовательностей для мономеров, которую можно применять в миниантителах (таблица 2). Каждая строка таблицы представляет последовательность мономерной конструкции с изложением слева направо от N-конца к С-концу. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения представленные последовательности каждой мономерной конструкции напрямую присоединены друг к другу. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция может содержать любую из конструкций, представленных в одной строке в таблице 2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкции могут содержать любую комбинацию из таблицы 2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, например, первый элемент в первой строке, столбец 3, можно объединить с первой строкой, столбец 4, с первой строкой, столбец 5, с первой строкой, столбец 6-8, с первой строкой, столбец 9. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения столбец 3 и столбец 5 можно поменять местами друг с другом. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый элемент в первой строке, столбец 3, можно объединить с первой строкой, столбец 4, со второй строкой, столбец 5, со второй строкой, столбец 6-8, со второй строкой, столбец 9. Таким образом, в таблицах представлены все возможные комбинации как в пределах одной строки, так и среди различных строк (и со столбцами, поменянными местами).

[0266] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция против CD8 содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1) согласно HCDR 1 в SEQ ID NO: 75; CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 76; CDR3 тяжелой цепи (HCDR3) согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 77; CDR1 легкой цепи (LCDR1) согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 78; CDR2 легкой цепи (LCDR2) согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 79; и/или CDR3 легкой цепи (LCDR3) согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 80. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция против ПСМА содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1) согласно HCDR 1 в SEQ ID NO: 81; CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 82; CDR3 тяжелой цепи (HCDR3) согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 83; CDR1 легкой цепи (LCDR1) согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 84; CDR2 легкой цепи (LCDR2) согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 85; и/или CDR3 легкой цепи (LCDR3) согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция против 5Т4 содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1) согласно HCDR 1 в SEQ ID NO: 87; CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) согласно HCDR2 в SEQ

ID NO: 88; CDR3 тяжелой цепи (HCDR3) согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 89; CDR1 легкой цепи (LCDR1) согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 90; CDR2 легкой цепи (LCDR2) согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 91; и/или CDR3 легкой цепи (LCDR3) согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция против АСКП содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1) согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 93; CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 94; CDR3 тяжелой цепи (HCDR3) согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 95; CDR1 легкой цепи (LCDR1) согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 96; CDR2 легкой цепи (LCDR2) согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 97; и/или CDR3 легкой цепи (LCDR3) согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 98. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция против CD3 содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1) согласно HCDR1 на ФИГ. 65B или 65C; CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) согласно HCDR2 на ФИГ. 65B или 65C; CDR3 тяжелой цепи (HCDR3) согласно HCDR3 на ФИГ. 65B или 65C; CDR1 легкой цепи (LCDR1) согласно LCDR1 на ФИГ. 65B или 65C; CDR2 легкой цепи (LCDR2) согласно LCDR2 на ФИГ. 65B или 65C; и/или CDR3 легкой цепи (LCDR3) согласно LCDR3 на ФИГ. 65B или 65C. Некоторые варианты реализации последовательностей CDR, которые можно применять с любой одной или несколькими последовательностями шарнира, описанными в настоящем документе, представлены в таблице 3.

ТАБЛИЦА 3

Последовательности CDR

	IAB22M (CD8)	IAB2M (ПСМА)	IAB20M (5T4)	IAB1M (АСКП)	IAB25M (CD3)
HCDR 1	GFNIKDT (SEQ ID NO: 75)	GYTFTEY (SEQ ID NO: 81)	GYSFTGY (SEQ ID NO: 87)	GFNIKDY (SEQ ID NO: 93)	GYTFTRY (SEQ ID NO: 174)
HCDR 2	DPANDN (SEQ ID NO: 76)	NINPNNGG (SEQ ID NO: 82)	NPNNGV (SEQ ID NO: 88)	DPENGD (SEQ ID NO: 94)	NPSRGY (SEQ ID NO: 175)
HCDR 3	GYGYYVFDH (SEQ ID NO: 77)	GWNFDY (SEQ ID NO: 83)	STMITNYVM DY (SEQ ID NO: 89)	GGF (SEQ ID NO: 95)	YYDDHYSLDY (SEQ ID NO: 176)
LCDR 1	RTSRSISQYLA (SEQ ID NO: 78)	KASQDVGTAVD (SEQ ID NO: 84)	KASQSVSND VA (SEQ ID NO: 90)	SASSSVRFIH (SEQ ID NO: 96)	SASSSVSYMN (SEQ ID NO: 177)
LCDR 2	SGSTLQS (SEQ ID NO: 79)	WASTRHT (SEQ ID NO: 85)	YTSSRYA (SEQ ID NO: 91)	DTSKLAS (SEQ ID NO: 97)	DTSKLAS (SEQ ID NO: 97)
LCDR 3	QQHNENPLT (SEQ ID NO: 80)	QQYNSYPLT (SEQ ID NO: 86)	QQDYNSPPT (SEQ ID NO: 92)	QQWGSSPFT (SEQ ID NO: 98)	QQWSSNPFT (SEQ ID NO: 178)

[0267] Данные конструкции могут находиться в любой из форм, описанных в настоящем документе, включая миниантитела, scFv и т.д. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит 6, 5, 4, 3, 2 или 1 вышеуказанный CDR (некоторые варианты реализации CDR представлены на ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки шарнира, описанные в настоящем

документе, можно объединить с любыми из CDR, описанными в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки верхнего шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любыми из CDR, описанными в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из основных шарнирных областей, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из CDR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков нижнего шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из CDR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков полного шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из CDR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки верхнего и основного шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любыми из CDR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков центрального и нижнего шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из CDR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из данных вариантов реализации на основе CDR могут являться частью миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит CDR3 тяжелой цепи (HCDR3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция специфично связывается с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конкурирует за связывание с одним или несколькими антителами, содержащими представленные в настоящем документе CDR. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит по меньшей мере 3 CDR тяжелой цепи, указанные в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит CDR3 тяжелой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция дополнительно содержит любую из последовательностей CDR2 тяжелой цепи, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из данных вариантов реализации можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА.

[0268] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция является человеческой или гуманизированной. В контексте миниантитела термин «человеческая» не означает, что конструкция идентична таковой, обнаруженной в природе у людей, но означает, что данная конструкция содержит последовательности, которые являются человеческими. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит по меньшей мере один каркасный участок человека (например, те участки, находящиеся перед, между и после CDR, представленных на ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C), или каркасный участок с идентичностью последовательности по меньшей мере приблизительно 80%, например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 93%, 95%, 97% или 99% с каркасным участком человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 из перечисленных FR. Согласно некоторым

вариантам реализации настоящего изобретения любые участки шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любыми из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки верхнего шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любым из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков центрального шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любым из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков нижнего шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любым из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков полного шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любым из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки верхнего и центрального шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любым из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из участков центрального и нижнего шарнира, описанный в настоящем документе, можно объединить с любым из FR, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из данных вариантов реализации на основе FR. может являться частью миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из данных вариантов реализации можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА.

[0269] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область тяжелой цепи согласно вариабельной области тяжелой цепи в SEQ ID NO: 14 (ПСМА), 16 или 99 (CD8), 18 или 102 (5T4), 68 (АСКП) либо 20 или 104 (или ФИГ. 65B и 65C) (CD3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая содержит последовательность с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с SEQ ID NO: 14 (ПСМА), 16 или 99 (CD8), 18 или 102 (5T4), 68 (АСКП) либо 20 или 104 (или ФИГ. 65B и 65C) (CD3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 13 (ПСМА), 15 (CD8), 17 или 100 или 101 (5T4), 67 (АСКП) либо 19 или 103 (или ФИГ. 65B и 65C) (CD3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область легкой цепи, которая содержит последовательность с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с SEQ ID NO: 13 (ПСМА), 15 (CD8), 17 или 100 или 101 (5T4), 67 (АСКП) либо 19 или 103 (или ФИГ. 65B и 65C) (CD3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция представляет собой антигенсвязывающую конструкцию человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи, вариабельную область легкой цепи или тяжелую и легкую цепи, которые являются по меньшей мере такими же идентичными, как и по меньшей мере последовательности вариабельной области тяжелой и/или легкой цепей, представленные выше. Согласно

некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из вышеуказанных вариантов реализации объединен с любым из вариантов реализации шарниров, описанных в настоящем документе, включая, например, в контексте миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанными в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки верхнего шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков центрального шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков нижнего шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков полного шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые участки верхнего и центрального шарнира, описанные в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из участков центрального и нижнего шарнира, описанных в настоящем документе, можно объединить с любыми из спариваний V_H и V_L, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из данных вариантов реализации на основе спариваний V_H и V_L могут являться частью миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любой из данных вариантов реализации можно применять в отношении миниантитела, которое связывается с CD8, CD3, 5T4, АСКП или ПСМА.

[0270] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит поддающийся обнаружению маркер. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит терапевтическое средство.

[0271] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция является бивалентной. Бивалентная антигенсвязывающая конструкция может содержать по меньшей мере первый антигенсвязывающий домен, например, первый scFv, и по меньшей мере второй антигенсвязывающий домен, например, второй scFv. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения бивалентная антигенсвязывающая конструкция представляет собой мультимер, который содержит по меньшей мере два мономера, например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 мономеров, каждый из которых содержит антигенсвязывающий домен. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция представляет собой миниантитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения одна или более частей шарниров, описанных в настоящем документе, включены в бивалентную конструкцию. Миниантитело может содержать любой из вариантов реализации CDR и вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи,

описанных в настоящем документе (например, последовательности CDR, представленные на ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция представляет собой моновалентный scFv. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен моновалентный scFv, который содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1) в HCDR1 согласно ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C, CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) в HCDR2 согласно ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C, HCDR3 в HCDR3 согласно ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C, CDR1 легкой цепи (LCDR1) в LCDR1 согласно ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C, CDR2 легкой цепи (LCDR2) в LCDR2 согласно ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C, и CDR3 легкой цепи (LCDR3) в LCDR3 согласно ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения моновалентный scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи согласно вариабельной области тяжелой цепи на ФИГ. 36A, 36B, 36C, 36D, 36E, 65B или 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения моновалентный scFv содержит вариабельную область легкой цепи согласно вариабельной области легкой цепи на ФИГ. 36A, 36B, 36C, 36D, 36E, 65B или 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения моновалентный scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи согласно вариабельной области тяжелой цепи на ФИГ. 66, 68 или 69, и вариабельную область легкой цепи согласно вариабельной области легкой цепи на ФИГ. 67 или 69.

[0272] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция является биспецифичной. Биспецифичные конструкции могут содержать по меньшей мере первый связывающий домен, например, scFv, который специфично связывается с первым эпитопом, и по меньшей мере второй связывающий домен, например, scFv, который специфично связывается со вторым эпитопом. Таким образом, биспецифичные антигенсвязывающие конструкции могут связываться с двумя или более эпитопами. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый эпитоп и второй эпитоп являются частью одного антигена, и биспецифичная антигенсвязывающая конструкция может, таким образом, связываться с двумя эпитопами одного антигена. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый эпитоп является частью первого антигена, и второй эпитоп является частью второго антигена, и биспецифичная антигенсвязывающая конструкция может, таким образом, связываться с двумя различными антигенами. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция связывается с двумя эпитопами одновременно.

[0273] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область тяжелой цепи согласно вариабельной области тяжелой цепи в SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 68, 99, 102 или 104 и/или согласно последовательностям на ФИГ. 65B и 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая содержит последовательность с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 68, 99, 102 или 104 и/или с последовательностями на ФИГ. 65B и 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 13, 15, 17, 19, 67, 100, 101 или 103 и/или последовательности на ФИГ. 65B и 65C. Согласно некоторым вариантам

реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит вариабельную область легкой цепи, которая содержит последовательность с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с SEQ ID NO: 13, 15, 17, 19, 67, 100, 101 или 103 и/или последовательности на ФИГ. 65B и 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция представляет собой антигенсвязывающую конструкцию человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи, вариабельную область легкой цепи или тяжелую и легкую цепи, которые являются по меньшей мере такими же идентичными, как и по меньшей мере последовательности вариабельной области тяжелой и/или легкой цепей, представленные выше.

[0274] Некоторые варианты реализации, описанные в настоящем документе, включают антигенсвязывающую конструкцию, которая конкурирует за связывание с молекулой-мишенью с одной или несколькими антигенсвязывающими конструкциями, описанными в настоящем документе, и содержит одну или более частей шарнира, описанного в настоящем документе (например, в таблице 1). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конкурирующая антигенсвязывающая конструкция связывается с тем же эпитопом на молекуле-мишени, что и эталонная антигенсвязывающая конструкция. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения эталонная антигенсвязывающая конструкция связывается с первым эпитопом молекулы-мишени, и конкурирующая антигенсвязывающая конструкция связывается со вторым эпитопом молекулы-мишени, но препятствует связыванию эталонной антигенсвязывающей конструкции с молекулой-мишенью, например, в результате пространственного блокирования связывания эталонной антигенсвязывающей конструкции или в результате индукции конформационного изменения в молекуле-мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый эпитоп перекрывается со вторым эпитопом.

[0275] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения форматы scFv и/или миниантитела обладают благоприятными фармакокинетическими характеристиками для диагностической визуализации и определенных терапевтических применений при сохранении высокой аффинности связывания и специфичности родительского антитела. По сравнению с визуализацией с помощью полноразмерного родительского антитела фармакокинетика данных фрагментов является более благоприятной, поскольку данные фрагменты способны нацеливаться на антиген, а затем быстро выводиться из системы для быстрой высококонтрастной визуализации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения более короткие периоды полужизни циркуляции миниантитела обеспечивают оптимальную визуализацию в течение диапазона времени от приблизительно 6-48 до 72 часов (в зависимости от клиренса и уровня «поглощения» антигена и периода полужизни изотопа, хелатированного с МА) после инъекции миниантитела. Быстрый клиренс из крови наряду с лучшим проникновением через ткань может позволить проводить визуализацию в тот же день, что может обеспечить значительное преимущество в клинической практике при управлении оказанием медицинского ухода за пациентом.

[0276] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фрагменты антитела могут содержать один, два или три CDR. вариабельной области легкой цепи и/или один, два или три CDR вариабельной области тяжелой цепи из антитела против АСКП, 5Т4, ПСМА, CD3 или CD8. Например, фрагмент антитела может содержать один, два или три CDR вариабельной области и/или один, два или три CDR

вариабельной области тяжелой цепи версий антитела мыши против АСКП, 5Т4, ПСМА, CD3 или CD8. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фрагмент антитела содержит один или более участков CDR из вариабельных областей тяжелой цепи или легкой цепи гуманизированного антитела против АСКП, 5Т4, ПСМА, CD3 или CD8.

[0277] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном АСКП, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или их фрагменты, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против АСКП представлены на ФИГ. 29B-29D, 36E, 60 (SEQ ID NO: 125 и 126), 61 (SEQ ID NO: 126), 62 (SEQ ID NO: 127), 63 (SEQ ID NO: 128), 64 (SEQ ID NO: 129), 65A (SEQ ID NO: 130). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном 5Т4, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или их фрагменты, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против 5Т4 представлены на ФИГ. 28B-28E, 32, 36C, 54 (SEQ ID NO: 119 и 120), 55 (SEQ ID NO: 120), 56 (SEQ ID NO: 121), 57 (SEQ ID NO: 122), 58 (SEQ ID NO: 123), 59 (SEQ ID NO: 124), 67, 68. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном ПСМА, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или их фрагменты, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против ПСМА представлены на ФИГ. 5B-5E, 7C-7E, 21B-21E, 34A-34F, 35A-35C, 36A, 47 (SEQ ID NO: 112 и 113), 48 (SEQ ID NO: 113), 49 (SEQ ID NO: 114), 50 (SEQ ID NO: 115), 51 (SEQ ID NO: 116), 52 (SEQ ID NO: 117), 53 (SEQ ID NO: 118). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном CD3, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или их фрагменты, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против CD3 представлены на ФИГ. 33, 36D, 69, 65B и 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном CD8, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или их фрагменты, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против CD8 представлены на ФИГ. 14B, 15B, 16B-16D, 20C-20G, 22B, 36B, 40 (SEQ ID NO: 105 и 106), 41 (SEQ ID NO: 106), 42 (SEQ ID NO: 107), 43 (SEQ ID NO: 108), 44 (SEQ ID NO: 109), 45 (SEQ ID NO: 110), 46 (SEQ ID NO: 111) и 66.

Варианты линкера

[0278] Согласно некоторым вариантам реализации отдельных антигенсвязывающих конструкций вариабельные домены тяжелой и легкой цепей могут быть связаны различными способами. По этой причине применение различных длин линкера между доменами V_H и V_L обеспечивает конформационную гибкость и диапазон движения для обеспечения образования дисульфидных связей.

[0279] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения длины двух линкеров могут находиться в диапазоне где-либо между (и включая) приблизительно от 1 до 50 аминокислот, например, от 2 до 15, от 2 до 14, от 3 до 13, от 4 до 10 или от 5 аминокислот до 8 аминокислот. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый линкер в паре для миниантитела может иметь одинаковую длину. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый линкер в паре может иметь разную длину. Согласно некоторым

вариантам реализации настоящего изобретения можно применять любую комбинацию пар длин линкера, при условии, что они обеспечивают целевую комбинацию и/или способствуют ей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять модифицированную аминокислоту.

[0280] В таблице 2 представлены варианты миниантитела. Получение и исследование экспрессии и связывания вариантов обеспечивает идентификацию целевого формата для получения белка для каждого нового миниантитела.

[0281] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер представляет собой линкер GlySer. Линкер GlySer может представлять собой полипептид, обогащенный остатками Gly и/или Ser. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения по меньшей мере приблизительно 40% остатков аминокислот линкера GlySer представляют собой Gly, Ser или комбинацию Gly и Ser, например, по меньшей мере приблизительно 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер GlySer составляет по меньшей мере приблизительно 2 аминокислоты в длину, например, по меньшей мере приблизительно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35 или 40 аминокислот в длину. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения мотив линкера может представлять собой $(G_3)S_n$ или $(G_4)S_n$ (n может представлять собой любое количество S; и согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения представляет собой 1 или 2). Например, a) GGGGS 5 АК, (SEQ ID NO: 66); B) GGGGSGGGGS 10 АК, (SEQ ID NO: 65); c) GGGGSGGGGSGGGGS 15 АК, (SEQ ID NO: 64); d) GSTSGGGSGGGS 12 АК, (SEQ ID NO: 63); или e) GSTSGGGSGGGSGGGGSS 18 АК (SEQ ID NO: 62). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер содержит по меньшей мере один треонин.

[0282] В таблицах 1 и 2 представлены различные необязательные последовательности, которые можно применять согласно некоторым вариантам реализации scFv и/или миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения scFv может представлять собой любой из таковых, описанных в настоящем документе, но с любой из последовательностей, представленных в таблице 1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело может представлять собой любое из таковых, описанных в настоящем документе, но с любой из последовательностей, представленных в полной строке в таблице 1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любая из антигенсвязывающих конструкций, описанных в настоящем документе, может содержать любую из частей последовательности шарнира, представленных в таблице 1.

[0283] «Миниантитело», описанное в настоящем документе, включает гомодимер, в котором каждый мономер представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), присоединенный к домену C_H3 человека с помощью последовательности шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность шарнира представляет собой последовательность шарнира IgG1 человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность шарнира представляет собой любую одну или более последовательностей шарнира, описанных в настоящем документе, например, любую из таковых, описанных в настоящем документе и/или в таблице 1 (включая любую часть или комбинацию их частей).

[0284] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность шарнира представляет собой искусственную последовательность шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

последовательность шарнира может представлять собой природный или искусственный шарнир IgG или часть либо комбинацию его частей из любого одного или нескольких из четырех классов шарниров IgG.

[0285] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность миниантитела может содержать CDR и/или FR, и/или последовательности вариабельной области, которые аналогичны последовательности, описанной в настоящем документе (например, представленной на фигурах или в таблице 2). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит последовательность (один CDR, несколько CDR, полный набор из 6 CDR, вариабельную область тяжелой цепи, вариабельную область легкой цепи, вариабельную область тяжелой и легкой цепей и т.д.), которые являются идентичными scFV миниантитела, описанного в настоящем документе.

[0286] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полипептид мономера содержит последовательности, представленные в таблице 2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полипептид мономера содержит последовательность с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с последовательностью V_LV_H мономера миниантитела, представленной в таблице 2.

[0287] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит вариабельную область цепи (вариабельную область тяжелой, легкой или тяжелой и легкой цепей), которая по меньшей мере приблизительно на 80% идентична последовательности тяжелой цепи в SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 68, 99, 102 или 104 (и/или соответствующим последовательностям на ФИГ. 65B или 65C) и/или последовательности легкой цепи в SEQ ID NO): 13, 15, 17, 19, 67, 100, 101 или 103 (и/или последовательностям на ФИГ. 65B или 65C), например, с идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93, 94, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%.

[0288] scFv могут иметь ориентацию V_HV_L или V_LV_H. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения V_H и V_L присоединены друг к другу аминокислотной линкерной последовательностью. Аминокислотный линкер может представлять собой линкер, описанный в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер обогащен GlySer и составляет приблизительно 15-20 аминокислот в длину. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения линкер обогащен GlySer и составляет 18 аминокислот в длину. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения длина линкера варьирует от (и включая) приблизительно 1 до 50 аминокислот, например, от 2 до 30, от 3 до 20, от 4 до 15 или от 5 аминокислот до 8 аминокислот. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер представляет собой GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO. 62). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело scFv содержит последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80% идентична scFv, описанному в настоящем документе, например, идентична по меньшей мере приблизительно на 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93, 94, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. scFv может иметь V_HV_L или V_LV_H ориентацию.

[0289] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый мономер миниантитела от N-конца к C-концу содержит следующие элементы: (a)

последовательность scFv, которая содержит домен V_H, присоединенный к домену V_L, и которая связывается с молекулой-мишенью, (b) шарнирный домен (например, верхняя и центральная шарнирные области, объединенные с нижней шарнирной областью и/или удлиняющей областью), и (c) последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждый мономер миниантитела содержит домен CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело кодируется нуклеиновой кислотой, может экспрессироваться клеткой, линией клеток или другой подходящей системой экспрессии, описанной в настоящем документе. Таким образом, сигнальная последовательность может быть слита с N-концом scFV для обеспечения секреции миниантитела при экспрессии в клетке или линии клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять другие сигнальные последовательности, например, сывороточного альбумина человека (SEQ ID NO: 70). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения различные сигнальные последовательности могут улучшать секрецию в зависимости от контекста и линии клеток, применяемой для экспрессии. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения сигнальную последовательность легкой цепи каппа иммуноглобулина человека (SEQ ID NO: 69) можно применять и/или вводить в нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно выбрать единичную последовательность из перечня, представленного в таблице 4, в зависимости от контекста и линии клеток, применяемой для экспрессии.

ТАБЛИЦА 4

Последовательности сигнального пептида

Источник сигнального пептида	Последовательность сигнального пептида
Легкая цепь каппа Ig мыши	METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 69)
Сывороточный альбумин человека (САЧ)	MKWVTFISLLFLFSSAYS (SEQ ID NO: 70)
Азуроцидин человека (АЦЧ)	MTRLTVLALLAGLLASSRA (SEQ ID NO: 71)
Пролактин	MDSKGSSQKGSRLLLLLWSNLLLCQGWS (SEQ ID NO: 72)
LCMV-GPC	MGQIVTMFEALPHIIDEVININVIIVLIIITSIKAVYNFATCGILALVSFLFLAGRSCG (SEQ ID NO: 73)
MMTV-Rem	MPNHQSGSPTGSSDLLLSGKKQRPHLALRRKRRREMRKINRKVRRMNLAPIKEKT AWQHLQALISEAEEVLKTSQTPQNSLTLFLALLSVLGPPPVTG (SEQ ID NO: 74)
Млекопитающие	Доступно во всемирной сети по адресу signalpeptide.de/index.php?m= listspdb_mammalia**
Дрозофила	Доступно во всемирной сети по адресу signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_drosophila**
Бактерия	Доступно во всемирной сети по адресу signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_bacteria**
Вирусы	Доступно во всемирной сети по адресу signalpeptide.de/index.php?m=listspdb_viruses**
**Сигнальные пептиды, упомянутые по адресам во всемирной сети, ссылки на которые приводятся выше, описанные в базе данных сигнальных пептидов, к которой можно получить доступ во всемирной сети по адресу: signalpeptide.de и по гиперссылкам, представленным выше, полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки.	

[0290] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено химерное миниантитело, которое связывается с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения химерное миниантитело содержит мономер в формате V_LV_H и содержит последовательность вариабельной области легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 13, 15, 17, 19, 67, 100, 101 или 103 (и/или соответствующие последовательности на ФИГ. 65B или 65C), и последовательность вариабельной области тяжелой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 68, 99, 102 или 104 (и/или последовательности на ФИГ. 65B или 65C), или мономер, представленный в таблице 2, или последовательность, которая характеризуется идентичностью по меньшей мере приблизительно 80% с указанным мономером, например, идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с указанным мономером. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения химерное миниантитело содержит мономер в формате V_HV_L и содержит последовательность вариабельной области легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 13, 15, 17, 19, 67, 100, 101 или 103 (и/или

соответствующие последовательности на ФИГ. 65B или 65C), и последовательность вариабельной области тяжелой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 68, 99,102 или 104 (и/или соответствующие последовательности на ФИГ. 65B или 65C), или мономер, представленный в таблице 2, или последовательность, которая характеризуется идентичностью по меньшей мере приблизительно 80% с указанным мономером, например, идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с указанным мономером. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит один или более CDR, представленных на ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит одну или более вариабельных областей, представленных на ФИГ. 36A, 36B, 36C, 36D, 36E, 66, 67, 68, 69, 65B или 65C или в таблице 2.

[0291] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, представленную на ФИГ. 36A, 36B, 36C, 36D, 36E, 66, 68, 69, 65B или 65C. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит вариабельную область легкой цепи, представленную на ФИГ. 36A, 36B, 36C, 36D, 36E, 67, 69, 65B или 65C.

[0292] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит один или более CDR, представленных в CDR. на ФИГ. 41, 48, 55, 61, 65B или 65C.

Нуклеиновые кислоты

[0293] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полипептиды антигенсвязывающих конструкций могут кодироваться нуклеиновыми кислотами и экспрессироваться in vivo или in vitro либо данные пептиды можно синтезировать химическим способом. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающую конструкцию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нуклеиновая кислота кодирует одну часть или мономер миниантитела или другой антигенсвязывающей конструкции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нуклеиновая кислота кодирует два или более мономеров, например, по меньшей мере 2 мономера. Нуклеиновые кислоты, кодирующие несколько мономеров, могут содержать сайты расщепления нуклеиновой кислоты между по меньшей мере двумя мономерами, могут кодировать сайт начала транскрипции или трансляции между двумя или более мономерами и/или могут кодировать протеолитические сайты-мишени между двумя или более мономерами.

[0294] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор экспрессии содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую антигенсвязывающую конструкцию, раскрытую в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор экспрессии содержит версию A вектора pcDNA3.1™/myc-His (-) для экспрессии в млекопитающих (Invitrogen, Inc.) или его вариант. Вектор экспрессии pcDNA3.1 содержит промотор CMV для экспрессии в млекопитающих и селективные маркеры млекопитающих (неомицин) и бактерий (ампициллин). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор экспрессии включает плазмиду. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор включает вирусный вектор, например, ретровирусный или аденовирусный вектор. Согласно вариантам реализации настоящего изобретения вектор включает космиду, YAC или BAC.

[0295] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

нуклеотидная последовательность, кодирующая по меньшей мере один из мономеров миниантитела, содержит по меньшей мере одну аминокислоту из SEQ ID NO, описанных в настоящем документе, включая таковые, раскрытые в настоящем документе для связывания с CD3, CD8, 5T4, ПСМА и АСКП, или последовательность, которая характеризуется идентичностью по меньшей мере приблизительно 80%, например, идентичностью приблизительно 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93, 94, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или большей идентичностью с указанной последовательностью.

Линии клеток

[0296] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, которая экспрессирует по меньшей мере одну из антигенсвязывающих конструкций, описанных в настоящем документе (которая может содержать по меньшей мере часть шарнира, описанного в настоящем документе). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линия клеток млекопитающих (например, линия клеток CHO-K1) является системой экспрессии для получения миниантител, scFv или других антител, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитела, scFv и другие антитела или фрагменты антитела, описанные в настоящем документе, являются негликозилированными, и система экспрессии млекопитающих не требуется, поскольку посттрансляционные модификации не нужны. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения для получения антигенсвязывающих конструкций, раскрытых в настоящем документе (например, миниантител), применяют одну или более из широкого множества систем экспрессии млекопитающих или отличных от млекопитающих, включая, без ограничения, системы экспрессии млекопитающих (например, клетки CHO-K1), системы экспрессии бактерий (например, E. coli, B. subtilis), системы экспрессии дрожжей (например, Pichia, S. cerevisiae) или любую другую известную систему экспрессии. Другие системы могут включать клетки насекомых и/или клетки растений.

Модификации антигенсвязывающей конструкции

[0297] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит по меньшей мере одну модификацию. Иллюстративные модификации включают, без ограничения, антигенсвязывающие конструкции, которые были модифицированы посредством гликозилирования, ацетилирования, ПЭГилирования, фосфорилирования, амидирования, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления и связывания с лигандом клетки или другим белком. Любую из множества химических модификаций можно осуществить с применением известных методик, включая, без ограничения, специфичное химическое расщепление, ацетилирование и метаболический синтез туникамицина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения производное может содержать одну или более неприродных аминокислот.

[0298] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с другим веществом с образованием конъюгата против мишени. Конъюгаты, описанные в настоящем документе, можно получить известными способами связывания антигенсвязывающих конструкций с липидами, углеводами, белками или другими атомами и молекулами. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конъюгат образован в результате сайт-специфичной конъюгации с применением подходящего соединения или связи. Сайт-специфичная конъюгация, наиболее вероятно, сохраняет активность связывания антигенсвязывающей конструкции. Вещество может быть конъюгировано

или присоединено к шарнирной области восстановленной антигенсвязывающей конструкции посредством образования тиоэфирной связи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять конъюгацию на основе тирозина. Другие соединения или связи, применяемые для образования конъюгата, могут включать, без ограничения, ковалентную связь, нековалентную связь, дисульфидную связь, гидразоновую связь, сложноэфирную связь, амидную связь и аминную связь, иминную связь, тиосемикарбазоновую связь, семикарбазоновую связь, оксимную связь и углерод-углеродную связь. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в антигенсвязывающую конструкцию не должен быть добавлен цистеин или другой линкерный аспект.

Поддающиеся обнаружению маркеры

[0299] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения модифицированная антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с поддающимся обнаружению маркером. В настоящем документе «поддающийся обнаружению маркер» включает атом, молекулу или соединение, которые являются подходящими для диагностики, обнаружения или визуализации расположения и/или количества молекулы-, клетки-, ткани-, органа-мишени и т.п. Поддающиеся обнаружению маркеры, которые можно применять согласно вариантам реализации, представленным в настоящем документе, включают, без ограничения, радиоактивные вещества (например, радиоактивные изотопы, радионуклиды, радиоактивные метки или радиоактивные индикаторы), красители, контрастные средства, флуоресцентные соединения или молекулы, биолюминесцентные соединения или молекулы, ферменты и усиливающие средства (например, парамагнитные ионы). Помимо этого, некоторые наночастицы, например, квантовые точки и наночастицы металла (описанные ниже), могут быть подходящими для применения в качестве средства для обнаружения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения поддающийся обнаружению маркер представляет собой индоцианин зеленый (IndoCyanine Green, ICG), Цирконий-89, IR800 и/или другой краситель, поглощающий в ближней инфракрасной области.

[0300] Иллюстративные радиоактивные вещества, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации, представленным в настоящем документе, включают, без ограничения, ^{18}F, ^{18}F-FAC, ^{32}P, ^{33}P, ^{45}Ti, ^{47}Sc, ^{52}Fe, ^{59}Fe, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{67}Ga, ^{68}Ga, ^{75}Sc, ^{77}As, ^{86}Y, ^{90}Y, ^{89}Sr, ^{89}Zr, ^{94}Tc, ^{94}Tc, ^{99}mTc, ^{99}Mo, ^{105}Pd, ^{105}Rh, ^{111}Ag, ^{111}In, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I, ^{131}I, ^{142}Pr, ^{143}Pr, ^{149}Pm, ^{153}Sm, $^{154\text{-}158}Gd$, ^{161}Tb, ^{166}Dy, ^{166}Ho, ^{169}Er, ^{175}Lu, ^{177}Lu, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{189}Re, ^{194}Ir, ^{198}Au, ^{199}Au, ^{211}At, ^{211}Pb, ^{212}Bi, ^{212}Pb, ^{213}Bi, ^{223}Ra и ^{225}Ac. Иллюстративные вещества-парамагнитные ионы, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров, включают, без ограничения, ионы переходных металлов и металлов лантаноидного ряда (например, металлов с атомными номерами от 6 до 9, 21-29, 42, 43, 44 или 57-71). Данные металлы включают ионы Cr, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb и Lu.

[0301] Если поддающийся обнаружению маркер представляет собой радиоактивный металл или парамагнитный ион, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения маркер может вступать в реакцию с реактивом, содержащим длинный «хвост» с одной или несколькими хелатирующими группами, присоединенными к длинному «хвосту» для связывания данных ионов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения реактив может нести реактивную группу, разработанную для ковалентного связывания цепей фрагмента антитела. Длинный

«хвост» может представлять собой полимер, такой как полилизин, полисахарид, полиэтиленгликоль (ПЭГ) или другую дериватизированную или поддающуюся дериватизации цепь, содержащую боковые группы, к которым может быть присоединена хелатирующая группа для связывания с ионами. Примеры хелатирующих групп, которые можно применять согласно вариантам реализации, представленным в настоящем документе, включают, без ограничения, этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), диэтилентриаминпентауксусную кислоту (DTPA), DOTA, NOTA, NODAGA, NETA, дефероксамин (Df который может также называться DFO), порфирины, полиамины, краун-эфиры, бис-тиосемикарбазоны, полиоксимы и подобные группы. Те же хелаты при комплексовании с нерадиоактивными металлами, такими как марганец, железо и гадолиний, являются подходящими для МРТ (магнитно-резонансной томографии) при применении с антигенсвязывающими конструкциями и носителями, описанными в настоящем документе. Макроциклические хелаты, такие как NOTA, NODAGA, DOTA и TETA, являются подходящими в сочетании с множеством металлов и радиометаллов, включая, без ограничения, радионуклиды галлия, иттрия и меди, соответственно. Можно применять другие хелаты кольцевого типа, такие как макроциклические полиэфиры, которые представляют интерес для стабильного связывания с радионуклидами, такими как Радий-223 для RAIT. Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения хелатирующие группы можно применять для присоединения средства для визуализации ПЭТ, такого как комплекс Алюминий-^{18}F или Цирконий-89, для нацеливания молекулы с целью применения в анализе методом ПЭТ.

[0302] Иллюстративные контрастные средства, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, барий, диатризоат, этиодизированное масло, цитрат галлия, йокармиковую кислоту, йоцетамовую кислоту, иодамид, иодипамид, иодоксамовую кислоту, иогуламид, иогексил, иопамидол, иопаноевую кислоту, иопроцеминовую кислоту, иосефамовую кислоту, иосериновую кислоту, иосуламид-меглумин, иосеметовую кислоту, иотасул, иотетриновую кислоту, иоталамовую кислоту, иотроксиновую кислоту, иоксаглиновую кислоту, иоксотризоевую кислоту, иподат, меглумин, метризамид, метризоат, пропилиодон, хлорид таллия или комбинации указанных соединений.

[0303] Биолюминесцентные и флуоресцентные соединения или молекулы и красители, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, флуоресцеин, флуоресцеина изотиоцианат (ФИТЦ), OREGON GREEN™, родамин, техасский красный, тетрародимина изотиоцианат (ТРИТЦ), Cy3, Cy5 и т.п., флуоресцентные маркеры (например, зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, GFP), фикоэритрин и т.п.), самозатухающие флуоресцентные соединения, которые активируются опухоль-ассоциированными протеазами, ферменты (например, люциферазу, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу и т.п.), наночастицы, биотин, дигоксигенин или комбинации указанных соединений.

[0304] Ферменты, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, кислую фосфатазу, глюкозооксидазу, β-галактозидазу, β-глюкоронидазу или β-лактамазу. Такие ферменты можно применять в комбинации с хромогеном, флуорогенным соединением или люминогенным соединением для получения поддающегося обнаружению сигнала.

[0305] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с наночастицей. Термин «наночастица» означает микроскопическую частицу, размер которой измеряется в нанометрах, например, частицу с по меньшей мере одним измерением, составляющим менее приблизительно 100 нм. Наночастицы можно применять в качестве поддающихся обнаружению веществ, поскольку они являются достаточно малыми, чтобы рассеивать видимый свет, а не поглощать его. Например, наночастицы золота в значительной степени обладают свойствами гасить видимый свет и в растворе принимают окраску от глубокого красного до черного цвета. В результате композиции, содержащие антигенсвязывающие конструкции, конъюгированные с наночастицами, можно применять для визуализации Т-клеток у субъекта in vivo. В нижнем сегменте диапазона размера наночастицы часто называют кластерами. Были созданы металлические, диэлектрические и полупроводниковые наночастицы, а также гибридные структуры (например, наночастицы типа ядро/оболочка). Наносферы, наностержни и наноцилиндры представляют собой лишь несколько выращенных форм. Полупроводниковые квантовые точки и нанокристаллы являются примерами дополнительных типов наночастиц. Такие наноразмерные частицы после конъюгации с антигенсвязывающей конструкцией можно применять в качестве визуализирующих средств для обнаружения Т-клеток in vivo, как описано в настоящем документе.

[0306] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения наличие стабильного шарнира обеспечивает стабильность нацеленно воздействующего средства. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения это приводит к лучшему биораспределению, более высокой чувствительности и/или сниженному почечному клиренсу. Вследствие этого данные конструкции могут являться более подходящими для обеспечения большей степени специфической активности. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данный подход обеспечивает по существу улучшенную чувствительность без воздействия высокой дозы на почки, которые являются радиочувствительным органом. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные конструкции являются более подходящими для РИТ (радиоиммунотерапии) по той же причине - благодаря низкому уровню почечного поглощения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения теперь можно применять сайт-специфичную конъюгацию с цистеинами, поскольку химическое восстановление в мягких условиях расщепляет 1 или 2 дисульфидные связи для применения их в качестве основы, но сохраняет остающиеся дисульфиды в неизменном состоянии. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данный подход позволит сохранить целостность конъюгата миниантитела.

Терапевтические средства и композиции

[0307] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтическая композиция может также содержать фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтически приемлемый носитель может представлять собой фармацевтически приемлемый материал, композицию или наполнитель, который вовлечен в перенос или транспортирование соединения, представляющего интерес, из одной ткани, органа или части тела в другую ткань, орган или часть тела. Например, носитель может представлять собой жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующее вещество либо некоторую комбинацию указанных веществ. Каждый компонент носителя является «фармацевтически приемлемым» в том смысле, что он является совместимым с другими компонентами состава. Носитель также должен быть подходящим для осуществления

контакта с любой тканью, органом или частью тела, с которыми он может сталкиваться; это означает, что в идеальном случае носитель не будет нести риска токсичности, раздражения, аллергического ответа, иммуногенности или любого другого осложнения, которое чрезмерно превышает его терапевтическую пользу.

[0308] Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, можно вводить посредством любого подходящего пути введения. Путь введения может означать любой путь введения, известный в данной области техники, включая, без ограничения, аэрозоль, энтеральный, назальный, офтальмический, пероральный, парентеральный, ректальный, трансдермальный (например, крем или мазь для местного применения, пластырь) или вагинальный. «Трансдермальное» введение можно осуществить с применением крема или мази для местного применения или посредством трансдермального пластыря. «Парентеральный» означает путь введения, который, как правило, связан с инъекцией, включая инфраорбитальную, инфузию, внутриартериальную, внутрикапсульную, внутрисердечную, внутрикожную, внутримышечную, интраперитонеальную, внутрилегочную, внутриспинальную, интрастернальную, интратекальную, внутриматочную, внутривенную, субарахноидальную, субкапсулярную, подкожную, чресслизистую или транстрахеальную. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно доставить интраоперационным способом в виде местного введения в течение хирургического вмешательства или резекции.

[0309] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с терапевтическим средством. «Терапевтическое средство» в настоящем документе представляет собой атом, молекулу или соединение, которые являются подходящими для лечения нарушения, связанного с молекулой-мишенью. Примеры терапевтических средств включают, без ограничения, лекарственные средства, химиотерапевтические средства, терапевтические антитела и фрагменты антител, токсины, радиоактивные изотопы, ферменты (например, ферменты для расщепления пролекарств на цитотоксическое средство в участке связывания антигенсвязывающей конструкции), нуклеазы, гормоны, иммуномодуляторы, антисмысловые олигонуклеотиды, хелаторы, соединения бора, фотоактивные средства и красители, и наночастицы. Примеры нарушений включают таковые, связанные с одной или несколькими молекулами-мишенями Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекулы-мишени могут представлять собой одну или более молекул из: CD8, CD3, ПСМА, АСКП и 5Т4.

[0310] Химиотерапевтические средства в природе часто являются цитотоксическими или цитостатическими и могут включать алкилирующие средства, антиметаболиты, противоопухолевые антибиотики, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы митоза, гормональную терапию, таргетные терапевтические средства и иммунотерапевтические средства. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения химиотерапевтические средства, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, 13-цис-ретиноевую кислоту, 2-хлордезоксиаденозин, 5-азацитидин, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, актиномицин-D, адриамицин, алдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, полностью трансретиноевую кислоту, альфа-интерферон, алтретамин, аметоптерин, амифостин, анагрелид, анастрозол, арабинозилцитозин, триоксид мышьяка, амсакрин, аминокампотецин, аминоглутетимид, аспарагиназу, азацитидин, бациллу Кальмета-Герена (bacillus calmetteguerin, BCG), бендамустин, бевацизумаб, бексаротен, бикалутамид, бортезомиб, блеомицин, бусульфан,

кальций-лейковорин, цитроворум фактор, капецитабин, канертиниб, карбоплатин, кармустин, цетуксимаб, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, кортизон, циклофосфамид, цитарабин, дарбэпоэтин альфа, дасатиниб, дауномицин, децитабин, денилейкин дифтитокс, дексаметазон, дексазон, декстразоксан, дактиномицин, даунорубицин, декарбазин, доцетаксел, доксорубицин, доксифлуридин, энилурацил, эпирубицин, эпоэтин альфа, эрлотиниб, эверолимус, эксеместан, эстрамустин, этопозид, филграстим, флуоксиместерон, фулвестрант, флавопиридол, флоксуридин, флударабин, фторурацил, флутамид, гефитиниб, гемцитабин, гемтузумаб озогамицин, госерелин, колониестимулирующий фактор гранулоцитов, колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов, гексаметилмеламин, гидрокортизона гидроксимочевину, ибритумомаб, интерферон альфа, интерлейкин-2, интерлейкин-11, изотретинион, иксабепилон, идарубицин, иматиниба мезилат, ифосфамид, иринотекан, лапатиниб, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролид, липосомный Ara-C, ломустин, мехлорэтамин, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, месну, метотрексат, метилпреднизолон, митомицин C, митотан, митоксантрон, неларабин, нилутамид, октреотид, опрелвекин, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, пеметрексед, панитумумаб, ПЭГ-интерферон, ПЭГ-аспаргазу, ПЭГ-филграстим, ПЭГ-L-аспарагиназу, пентостатин, пликамицин, преднизолон, преднизон, прокарбазин, ралоксифен, ритуксимаб, ромиплостим, ралитрексед, сапацитабин, сарграмостин, сатраплатин, сорафениб, сунитиниб, семустин, стрептозоцин, тамоксифен, тегафур, тегафур-урацил, темсиролимус, темозоломид, тенипозид, талидомид, тиогуанин, тиотепу, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трастузумаб, третиноин, тримитрексат, алрубицин, винкристин, винбластин, виндестин, винорелбин, вориностат или золедроновую кислоту.

[0311] Токсины, которые можно применять согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, ауристатин E, ауристатин F, доластатин 10, доластатин 15, комбретастатин и их аналоги, майтанзиноид, калихеамицин, альфа-аманитин, димеры пирролобензодиазепина, эпотилоны, дуокармицин и его аналоги, тубулизин D, базиллистатины, рицин, абрин, рибонуклеазу (РНКазу), ДНКазу I, стафилококковый энтеротоксин-A, антивирусный белок фитолакки, гелонин, дифтерийный токсин, экзотоксин Pseudomonas и эндотоксин Pseudomonas.

[0312] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения наночастицы применяют в терапевтических применениях в качестве носителей лекарственных средств, которые при конъюгации с антигенсвязывающей конструкцией доставляют химиотерапевтические средства, гормональные терапевтические средства, радиотерапевтические средства, токсины или любое другое цитотоксическое или противораковое средство, известное в данной области техники, к раковым клеткам, которые сверхэкспрессируют мишени на поверхности клетки.

[0313] Затем любую из антигенсвязывающих конструкций, описанных в настоящем документе, можно конъюгировать с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, поддающимися обнаружению маркерами, наночастицами, носителями или с комбинацией указанных средств. Например, антигенсвязывающую конструкцию можно пометить радиоактивным изотопом Иодом-131 и конъюгировать с липидным носителем, в результате чего липидный конъюгат против молекулы-мишени образует мицеллу. В мицеллу можно ввести одно или более терапевтических средств или поддающихся обнаружению маркеров. В качестве альтернативы, помимо носителя антигенсвязывающую конструкцию можно пометить радиоактивным изотопом Иодом-131 I (например, по остатку тирозина) и конъюгировать с лекарственным средством (например, по эпсилон-аминогруппе остатка лизина), и в носитель можно ввести

дополнительное терапевтическое средство или поддающийся обнаружению маркер.

[0314] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции конъюгировали с терапевтическим средством. Несмотря на то, что данные антигенсвязывающие конструкции могут характеризоваться более коротким периодом полужизни в сосудистом русле по сравнению с полноразмерным антителом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные форматы могут демонстрировать улучшенное проникновение в опухоль благодаря их меньшему размеру и могут являться терапевтически эффективными при соответствующем оснащении цитотоксическим лекарственным средством или радиоактивным изотопом. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять подход на основе конъюгата антитела с лекарственным средством. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтический подход включает радиоиммунотерапию посредством применения соответствующей радиоактивной метки, такой как Иод-131, бета-излучателя, такого как Иттрий-90, Лютеций-177, Медь-67, Астатин-211, Свинец-212/Бисмут-212, Актиний-225/Бисмут-213 и Торий, которые могут обеспечивать повреждение и гибель клеток в ткани-мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения лечение данными фрагментами, оснащенными цитотоксическим лекарственным средством или радионуклидом, приводит к меньшей неспецифичной токсичности, поскольку они будут быстрее выводиться из организма.

[0315] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно присоединить к терапевтическому средству против нарушения, связанного с экспрессией молекулы-мишени.

[0316] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции против молекулы-мишени применяют в качестве самостоятельного медицинского средства (например, антигенсвязывающая конструкция при отсутствии терапевтического средства) при лечении нарушения, связанного с экспрессией молекулы-мишени.

[0317] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая аминокислотную шарнирную область любого из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в композиции наблюдается менее 30% агрегации (или высокомолекулярной конструкции) миниантитела, например, менее 20, 10, 5 или 1% агрегации.

[0318] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая аминокислотную шарнирную область любой из конструкций, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно применять количество от 1 микрограмма до 100 мг. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения такая композиция может характеризоваться сниженным уровнем агрегации по сравнению с конструкциями без указанной структуры шарнира.

[0319] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушение представляет собой таковое, связанное с 5T4, CD8, CD3, АСКП или ПСМА. Однако различные шарниры, раскрытые в настоящем документе, можно применять в отношении любой молекулы-мишени или антигенсвязывающей конструкции, которая содержит шарнир.

Наборы

[0320] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

предложены наборы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит антигенсвязывающую конструкцию, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающую конструкцию, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит линию клеток, которая продуцирует антигенсвязывающую конструкцию, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит поддающийся обнаружению маркер, описанный в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит терапевтическое средство, описанное в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит буферы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит положительные контроли, например, мишень-специфичные клетки или их фрагменты. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит отрицательные контроли, например, поверхность или раствор, которые по существу не содержат мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит упаковку. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения набор содержит инструкции.

Способы обнаружения присутствия или отсутствия молекулы-мишени

[0321] Антигенсвязывающие конструкции можно применять для обнаружения присутствия или отсутствия молекулы-мишени in vivo и/или in vitro. Соответственно, некоторые варианты реализации настоящего изобретения включают способы обнаружения присутствия или отсутствия мишени. Способ может включать применение антигенсвязывающей конструкции в отношении образца. Способ может включать обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любую молекулу-мишень можно обнаружить с применением возможностей, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекула-мишень, подлежащая обнаружению, представляет собой одну или более молекул из 5T4, CD8, CD3, АСКП или ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекулу-мишень обнаруживают с применением одной или нескольких структур миниантитела, представленных на фигурах и/или в таблицах, таких как таблица 2 (или по меньшей мере с применением структуры шарнира, представленной в таблице 1).

[0322] В настоящем изобретения предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия молекулы-мишени. Следует понимать, что процессы, описанные ниже, можно осуществить в любой последовательности и/или можно необязательно повторить и/или исключить, и что в способ можно необязательно добавить дополнительные этапы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию, описанную в настоящем документе, можно применять в отношении образца. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно осуществить необязательную промывку. Необязательно, в отношении образца можно применять вторичную антигенсвязывающую конструкцию. Можно осуществить необязательную промывку. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно обнаружить связывание или отсутствие связывания антигенсвязывающей конструкции с молекулой-мишенью.

[0323] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

антигенсвязывающую конструкцию, описанную в настоящем документе, применяют в отношении образца in vivo. Антигенсвязывающую конструкцию можно вводить субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, отличное от человека, например, крысу, мышь, морскую свинку, хомяка, кролика, собаку, кошку, корову, лошадь, козу, овцу, осла, свинью, обезьяну или человекообразного примата. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию вводят субъекту посредством инфузии. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инфузия является внутривенной. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инфузия является интраперитонеальной. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию применяют у субъекта наружно или местно (как в случае интервенционного или интраоперационного применения). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в отношении субъекта применяют капсулу, содержащую антигенсвязывающую конструкцию, например, пероральным или интраперитонеальным путем. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию выбирают для снижения риска иммунологического ответа субъекта. Например, антигенсвязывающую конструкцию для субъекта-человека можно гуманизировать, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения после применения антигенсвязывающей конструкции in vivo от хозяина отбирают образец или часть образца. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию применяют in vivo, инкубируют in vivo в течение периода времени, как описано в настоящем документе, и образец отбирают для анализа in vitro, например, для обнаружения in vitro антигенсвязывающей конструкции, связанной с молекулой-мишенью, или ее отсутствия, как описано в настоящем документе.

[0324] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию применяют в отношении образца in vitro. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец является свежеотобранным от субъекта, например, представляет собой биопсию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец инкубируют после забора от субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец фиксируют. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец включает целый орган и/или ткань. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец включает одну или более целых клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец получен из экстрактов клеток, например, лизатов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию в растворе добавляют в раствор в образце. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию в растворе добавляют в образец, который не содержит раствора, например, в лиофилизированный образец, таким образом, восстанавливая образец. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения лиофилизованную антигенсвязывающую конструкцию добавляют в образец, который содержит раствор, таким образом, восстанавливая антигенсвязывающую конструкцию.

[0325] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

антигенсвязывающую конструкцию необязательно инкубируют с образцом. Антигенсвязывающую конструкцию можно инкубировать в течение не более приблизительно 14 дней, например, не более приблизительно 14 дней, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 дня, или не более приблизительно 23 часов, например, не более приблизительно 23 часов, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,75, 0,5, 0,25 или 0,1 часа, включая диапазоны между любыми двумя из перечисленных значений. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инкубацию проводят в субъекте, которому была введена антигенсвязывающая конструкция. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инкубацию проводят в инкубаторе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инкубатор поддерживают при постоянной температуре, например, приблизительно 21°C, при комнатной температуре, 25°C, 29°C, 34°C, 37°C или 40°C.

[0326] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию, которая не связалась с мишенью, необязательно удаляют из образца. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец промывают. Промывка образца может включать удаление раствора, который содержит несвязавшуюся антигенсвязывающую конструкцию, и добавление раствора, который не содержит антигенсвязывающей конструкции, например, буферного раствора. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец in vitro промывают, например, посредством отсасывания, пипетирования, откачивания или сцеживания раствора, который содержит несвязавшуюся антигенсвязывающую конструкцию, и добавления раствора, который не содержат антигенсвязывающей конструкции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения образец in vivo промывают, например, посредством введения субъекту раствора, который не содержит антигенсвязывающей конструкции, или посредством промывки участка наружного введения антигенсвязывающей конструкции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения промывку проводят по меньшей мере два раза, например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 раз. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения после промывки или промывок из образца удаляют по меньшей мере приблизительно 50% несвязавшегося антитела, например, по меньшей мере приблизительно 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% или более.

[0327] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения из образца удаляют несвязавшуюся антигенсвязывающую конструкцию. После применения антигенсвязывающей конструкции в отношении образца антигенсвязывающая конструкция, связавшаяся с мишенью, достигает равновесия с антигенсвязывающей конструкцией, не связавшейся с мишенью, в результате чего в определенный момент времени после применения антигенсвязывающей конструкции количество антигенсвязывающей конструкции, связанной с мишенью, по существу не увеличивается. После этого можно удалить по меньшей мере часть количества антигенсвязывающей конструкции, которая не связалась с мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения несвязавшуюся антигенсвязывающую конструкцию удаляют посредством метаболических или других физических процессов субъекта, которому было введено антитело или фрагмент. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения несвязавшуюся антигенсвязывающую конструкцию удаляют посредством добавления средства, которое разрушает или дестабилизирует несвязавшуюся антигенсвязывающую конструкцию, например, протеазы или

нейтрализующего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения через 1 день после применения антигенсвязывающей конструкции по меньшей мере приблизительно 30% антигенсвязывающей конструкции, которую применяли, было устранено, например, по меньшей мере приблизительно 30%, 40%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% или 99,9%. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения через 2 дня после применения антигенсвязывающей конструкции по меньшей мере приблизительно 40% антигенсвязывающей конструкции, которую применяли, было устранено, например, по меньшей мере приблизительно 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% или 99,9%.

[0328] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения обнаруживают присутствие или отсутствие молекулы-мишени. Присутствие или отсутствие мишени можно обнаружить на основании присутствия или отсутствия антигенсвязывающей конструкции в образце. После удаления и/или устранения антигенсвязывающей конструкции из образца, например, посредством промывки и/или метаболического устранения, оставшаяся в образце антигенсвязывающая конструкция может свидетельствовать о присутствии мишени, тогда как отсутствие антигенсвязывающей конструкции в образце может свидетельствовать об отсутствии мишени.

[0329] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит поддающийся обнаружению маркер, описанный в настоящем документе. Таким образом, о присутствии антигенсвязывающей конструкции можно заключить на основании обнаружения поддающегося обнаружению маркера.

[0330] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вторичную антигенсвязывающую конструкцию применяют для обнаружения антигенсвязывающей конструкции. Вторичная антигенсвязывающая конструкция может специфично связываться с антигенсвязывающей конструкцией. Например, вторичная антигенсвязывающая конструкция может содержать поликлональное или моноклональное антитело, диатело, миниантитело и т.д. против антитела типа хозяина или против антигенсвязывающей конструкции самой по себе. Вторичную антигенсвязывающую конструкцию можно конъюгировать с поддающимся обнаружению маркером, как описано в настоящем документе. Вторичную антигенсвязывающую конструкцию можно применять в отношении образца. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вторичную антигенсвязывающую конструкцию применяют в отношении образца по существу тем же способом, что и антигенсвязывающую конструкцию. Например, если антигенсвязывающую конструкцию вводили субъекту посредством инфузии, вторичную антигенсвязывающую конструкцию также можно вводить субъекту посредством инфузии.

[0331] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения связывание или отсутствие связывания антигенсвязывающей конструкции обнаруживают посредством по меньшей мере одного из следующих методов: позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОЭКТ), магнитно-резонансной визуализации (ЯМР) или обнаружения испускания флуоресценции. ПЭТ может включать, без ограничения, визуализацию ПЭТ мелких животных. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения связывание или отсутствие связывания антигенсвязывающей конструкции обнаруживают посредством двух или

более форм визуализации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения обнаружение можно осуществлять посредством близкого инфракрасного (БИК) излучения и/или излучения Черенкова.

[0332] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения возможна любая комбинация способов визуализации, включая, в качестве примера, ПЭТ + БИК, ПЭТ + ОЭКТ и т.д.

Способы нацеливания терапевтического средства на клетку

[0333] Антигенсвязывающие конструкции можно применять для нацеливания терапевтической молекулы, например, цитотоксина, на мишень-положительную клетку, такую как клетка, экспрессирующая молекулу-мишень. Таким образом, некоторые варианты реализации настоящего изобретения включают способы нацеливания терапевтического средства на мишень-положительную клетку. Способ может включать введение субъекту антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе. Субъект может представлять собой субъекта, который нуждается, например, субъекта, который нуждается в устранении или нейтрализации по меньшей мере некоторых мишень-положительных клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит по меньшей мере одно терапевтическое средство, описанное в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтическое средство может быть напрямую конъюгировано с антигенсвязывающей конструкцией посредством ковалентной связи, такой как дисульфидная связь. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект может получить пользу от локализации клетки, положительной в отношении молекулы-мишени, к другой клетке или средству.

[0334] Необязательно, перед и/или после введения антигенсвязывающей конструкции, которая содержит по меньшей мере одно терапевтическое средство, определяют количество и/или локализацию мишень-положительных клеток пациента. Например, определение количества и/или локализации мишень-положительных клеток до введения может свидетельствовать, получит ли пациент вероятную пользу от нейтрализации и/или устранения мишень-положительных клеток. Определение количества и/или локализации мишень-положительных клеток после введения может свидетельствовать о том, были ли устранены мишень-положительные клетки у пациента.

[0335] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно применять в качестве терапевтического средства в качестве самостоятельной конструкции (например, без токсина, конъюгированного с ней). Несмотря на то, что фрагменты характеризуются более коротким периодом полужизни по сравнению с интактным антителом, которое будет менее оптимальным для терапии, данные форматы могут демонстрировать улучшенное проникновение в опухоль благодаря их меньшему размеру и могут являться терапевтически эффективными при соответствующем оснащении цитотоксическим лекарственным средством или радиоактивным изотопом.

[0336] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения другой терапевтический подход представляет собой радиоиммунотерапию посредством присоединения соответствующей радиоактивной метки, такой как Иод-131, бета-излучателя, такого как Иттрий-90, Лютеций-177, Медь-67, Астатин-211, Свинец-212/Бисмут-212, Актиний-225/Бисмут-213 и Торий, которые могут обеспечивать повреждение и гибель клетки.

[0337] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию применяют для нацеливания на клетки,

экспрессирующие молекулу-мишень. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтическое средство является соответствующим для одного или нескольких нарушений, связанных с по меньшей мере одной из следующих молекул: CD8, CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4, например. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтическое средство является соответствующим для лечения одного или нескольких из следующих нарушений:

Специфичные мишени/конструкции

[0338] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из композиций, способов (например, способов лечения, способов получения, способов обнаружения и т.д.), наборов, средств, модификаций антигенсвязывающей конструкции, линий клеток, нуклеиновых кислот и т.д., описанных в настоящем документе, можно применять в отношении любой молекулы-мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекула-мишень может являться таковой, связанной с иммунотерапией рака. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекула-мишень может являться одной или несколькими молекулами из CD8, CD3, 5Т4, АСКП или ПСМА, включая их варианты.

[0339] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения одну или более антигенсвязывающих конструкций, таких как миниантитело, можно применять для лечения субъекта, страдающего от нарушения, связанного с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекула-мишень может представлять собой любую молекулу-мишень, для которой существует антигенсвязывающая конструкция, которая будет с ней связываться. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения молекула-мишень может представлять собой по меньшей мере одну из следующих молекул: CD8, CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4, и, таким образом, нарушение, лечение которого проводят, может представлять собой таковое, связанное с по меньшей мере одной из следующих молекул: CD8, CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения одну или более антигенсвязывающих конструкций, таких как миниантитело, можно применять для диагностики субъекта относительно того, страдает ли он или не страдает от связанного с молекулой-мишенью нарушения.

[0340] В настоящем документе термин «субъект» означает любое животное (например, млекопитающее), включая, без ограничения, людей, нечеловекообразных приматов, грызунов, собак, свиней и т.п.

[0341] В каждом из разделов ниже представлены различные варианты реализации различных антигенсвязывающих конструкций, описанных в настоящем документе. Все из данных вариантов реализации представлены в виде различных форм антигенсвязывающих конструкций, включая миниантитела и scFv. Разделы ниже в явном виде представлены для мишень-специфичных вариантов реализации; однако они предусмотрены как аспекты, которые являются совместимыми с любым из соответствующих вариантов, представленных в настоящем описании в другом месте. Таким образом, варианты реализации настоящего изобретения не исключают других вариантов реализации, но вместо этого представляют собой варианты, которые можно объединить с любым из других вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Например, любые из структур шарнира, описанных в настоящем документе, можно применять в любой одной или нескольких из указанных конструкций и/или способов. Аналогично, различные варианты реализации, представленные ниже в отношении любой из пяти мишеней CD8, CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4, можно также поменять с другими указанными мишенями. Таким образом, несмотря на то, что

обсуждение АСКП направлено на АСКП, следует понимать, что данные варианты реализации можно также применять в отношении конструкций CD8, CD3, ПСМА или 5Т4. Аналогично, описания в отношении CD8 можно также применять, например, в отношении CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4.

[0342] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения с любой одной или несколькими из конструкций против CD8, CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4, описанных в настоящем документе, можно применять химиотерапевтические средства. Химиотерапевтические средства в природе часто являются цитотоксическими или цитостатическими и могут включать алкилирующие средства, антиметаболиты, противоопухолевые антибиотики, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы митоза, гормональную терапию, таргетные терапевтические средства и иммунотерапевтические средства. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения химиотерапевтические средства, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, 13-цис-ретиноевую кислоту, 2-хлордезоксиаденозин, 5-азацитидин, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, актиномицин-D, адриамицин, алдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, полностью трансретиноевую кислоту, альфа-интерферон, алтретамин, аметоптерин, амифостин, анагрелид, анастрозол, арабинозилцитозин, триоксид мышьяка, амсакрин, аминокампотецин, аминоглутетимид, аспарагиназу, азацитидин, бациллу Кальмета-Герена (BCG), бендамустин, бевацизумаб, бексаротен, бикалутамид, бортезомиб, блеомицин, бусульфан, кальций-лейковорин, цитроворум фактор, капецитабин, канертиниб, карбоплатин, кармустин, цетуксимаб, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, кортизон, циклофосфамид, цитарабин, дарбэпоэтин альфа, дасатиниб, дауномицин, децитабин, денилейкин дифтитокс, дексаметазон, дексазон, декстразоксан, дактиномицин, даунорубицин, декарбазин, доцетаксел, доксорубицин, доксифлуридин, энилурацил, эпирубицин, эпоэтин альфа, эрлотиниб, эверолимус, эксеместан, эстрамустин, этопозид, филграстим, флуоксиместерон, фулвестрант, флавопиридол, флоксуридин, флударабин, фторурацил, флутамид, гефитиниб, гемцитабин, гемтузумаб озогамицин, госерелин, колониестимулирующий фактор гранулоцитов, колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов, гексаметилмеламин, гидрокортизона гидроксимочевину, ибритумомаб, интерферон альфа, интерлейкин-2, интерлейкин-11, изотретинион, иксабепилон, идарубицин, иматиниба мезилат, ифосфамид, иринотекан, лапатиниб, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролид, липосомный Ara-C, ломустин, мехлорэтамин, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, месну, метотрексат, метилпреднизолон, митомицин С, митотан, митоксантрон, неларабин, нилутамид, октреотид, опрелвекин, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, пеметрексед, панитумумаб, ПЭГ-интерферон, ПЭГ-аспаргазу, ПЭГ-филграстим, ПЭГ-L-аспарагиназу, пентостатин, пликамицин, преднизолон, преднизон, прокарбазин, ралоксифен, ритуксимаб, ромиплостим, ралитрексед, сапацитабин, сарграмостин, сатраплатин, сорафениб, сунитиниб, семустин, стрептозоцин, тамоксифен, тегафур, тегафур-урацил, темсиролимус, темозоломид, тенипозид, талидомид, тиогуанин, тиотепу, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трастузумаб, третиноин, тримитрексат, алрубицин, винкристин, винбластин, виндестин, винорелбин, вориностат или золедроновую кислоту.

[0343] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любую одну или более из конструкций, например, антигенсвязывающих конструкций против CD8, CD3, ПСМА, АСКП или 5Т4, можно связать посредством одного или нескольких цистеинов в шарнире с хелаторами, лекарственным средством или любыми из других

компонентов, описанных в настоящем документе.

АСКП-1AB1M

[0344] Антиген стволовых клеток предстательной железы (АСКП) представляет собой гликопротеин поверхности клетки, который экспрессируется в нормальной предстательной железе и мочевом пузыре человека и сверхэкспрессируется в типах рака предстательной железы (40% первичных опухолей и 60 - 100% метастазов в лимфатический узел и костный мозг). АСКП также в высокой степени экспрессируется в переходных карциномах мочевого пузыря и в карциноме поджелудочной железы. Пример белка АСКП представлен в SEQ ID NO: 132. IG8, моноклональное антитело мыши против АСКП, специфичное к АСКП, продемонстрировало противоопухолевую нацеливающую активность in vivo (Gu, Z. et al., "Anti-prostate stem cell antigen monoclonal antibody 1G8 induces cell death in vitro and inhibits tumor growth in vivo via a Fc-independent mechanism," Cancer Res., Vol. 65, No. 20, pp. 9495-9500, 2005). Данное антитело гуманизировали посредством переноса в каркасный участок человека (Трастузумаб) и назвали 2 B3 (Olafsen, T. et al., "Targeting, imaging, and therapy using a humanized antiprostate stem cell antigen (PSCA) antibody," Immunotherapy, Vol. 30, No. 4, pp. 396-405, 2007).

[0345] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения варианты реализации, включающие антигенсвязывающие конструкции против АСКП, могут обеспечить средства, которые обладают соответствующими фармакодинамическими свойствами для нацеливания и визуализации опухолей, которые экспрессируют АСКП. В данной области большое значение имеют обладающие чувствительностью и специфичностью эффективные средства для визуализации типов рака, в особенности, ранних стадий опухолей или таковых с ранними метастазами, не поддающимися визуализации традиционными способами. Поскольку АСКП на высоком уровне экспрессируется большинством опухолей предстательной железы, мочевого пузыря и поджелудочной железы, АСКП является ценной мишенью при обнаружении, диагностике, прогнозировании и лечении данных типов рака. Некоторые варианты реализации, описанные в настоящем документе, обеспечивают конструкции, обладающие характеристиками визуализации и нацеливания на опухоли. Данные конструкции также можно применять для нацеливания генотерапии на опухоль, для радиоактивной терапии, и данные конструкции могут обладать терапевтической применимостью сами по себе.

[0346] В настоящем изобретения предложены генно-инженерные антигенсвязывающие конструкции, которые с высокой аффинностью распознают новый маркер поверхности клетки в предстательной железе и других типах рака. Данные генно-инженерные антигенсвязывающие конструкции можно специфично приспособить для применения in vivo для нацеливания и обнаружения. АСКП на высоком уровне экспрессируется большинством опухолей предстательной железы, мочевого пузыря и поджелудочной железы и является перспективной мишенью. Варианты реализации, описанные в настоящем документе, описывают инновационную молекулу с оптимальными характеристиками для визуализации опухоли. Данную молекулу также можно применять для нацеливания генотерапии, радиоактивности на опухоль, или данная молекула может обладать терапевтической применимостью сама по себе.

[0347] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения АСКП, на который нацелено антитело против АСКП, представляет собой АСКП человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения иммуноконъюгат можно применять для нацеливания эффекторной группы на АСКП-положительную клетку, в особенности, на клетки, которые сверхэкспрессируют белок АСКП. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения АСКП, на который нацелено

миниантитело против АСКП, представляет собой АСКП человека.

[0348] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкции, описанные в настоящем документе, могут обеспечить средства, которые обладают соответствующими фармакодинамическими свойствами для нацеливания и визуализации опухолей, которые экспрессируют АСКП. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело обеспечивает эффективное средство для визуализации типов рака, обладающее чувствительностью и специфичностью, в особенности, ранних стадий опухолей или таковых с ранними метастазами, не поддающимися визуализации традиционными способами.

[0349] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном АСКП, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или другие фрагменты антител, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против АСКП представлены на ФИГ. 29B-29D, 36E, 60 (SEQ ID NO: 125 и 126), 61 (SEQ ID NO: 126), 62 (SEQ ID NO: 127), 63 (SEQ ID NO: 128), 64 (SEQ ID NO: 129) и 65A (SEQ ID NO: 130).

[0350] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция обеспечивает визуализацию рака при ранней диагностике или диагностике метастазирующего заболевания. В частности, большое значение имеют лучшие средства для визуализации рака предстательной железы для обнаружения и определения стадии. Визуализация с применением антигенсвязывающей конструкции против АСКП будет весьма подходящей для визуализации метастазов в кости и для оценки ответа на лечение. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ обнаружения рака поджелудочной железы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения высокоаффинное, высокоспецифичное сконструированное миниантитело приспособлено для нацеливания и обнаружения АСКП in vivo у пациентов, страдающих от рака предстательной железы, рака мочевого пузыря и рака поджелудочной железы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения «АСКП-зависимое нарушение» может включать опухоль предстательной железы, рак предстательной железы, опухоль мочевого пузыря, переходную карциному мочевого пузыря, опухоль поджелудочной железы, карциному поджелудочной железы, любую опухоль, связанную с экспрессией АСКП, любой рак, связанный с экспрессией АСКП, или любое нарушение, связанное с экспрессией АСКП.

[0351] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена высокоаффинная антигенсвязывающая конструкция против АСКП, которую можно применять при лечении и обнаружении типов рака, которые сверхэкспрессируют АСКП.

[0352] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно также присоединить к терапевтическим средствам или поддающимся обнаружению маркерам. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтическое средство представляет собой цитотоксическое средство. Например, средство может представлять собой рицин, А-цепь рицина, доксорубицин, даунорубицин, таксол, бромид этидия, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, дигидроксиантрациндион, актиномицин D, дифтерийный токсин, экзотоксин Pseudomonas (PE) A, PE40, абрин, цепь А абрина, цепь А модекцина, альфа-сарцин, гелонин митогеллин, ретстриктоцин, феномицин, эномицин, курицин, кротин, калихеамицин, ингибитор Saponaria officinalis, майтанзиноиды или глюкокортикоидрицин. Согласно другим вариантам реализации настоящего

изобретения терапевтическое средство представляет собой радиоактивный изотоп. Радиоактивный изотоп можно выбрать, например, из группы, состоящей из ^{212}Bi, ^{131}I, ^{111}In, ^{90}Y и ^{186}Re. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения конструкция присоединена к ферменту, активирующему противораковое пролекарство, способному преобразовать пролекарство в его активную форму.

[0353] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция против АСКП помечена поддающимся обнаружению маркером. Маркер может представлять собой, например, радиоактивный изотоп, флуоресцентное соединение, биолюминесцентное соединение, хемилюминесцентное соединение, хелатор металла или фермент. В качестве визуализирующих меток можно применять множество радионуклидов, включая, без ограничения, ^{124}I, ^{86}Y, ^{18}F, ^{94m}Tc и т.п. Специалисту в данной области техники известны другие радионуклиды, в особенности хорошо подходящие для применения в данном варианте реализации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ может уничтожать раковую клетку. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция распознает и связывается с белком АСКП, как показано ниже, начиная с лейцина в положении аминокислоты 22 и заканчивая аланином в положении аминокислоты 99. Согласно дополнительным вариантам реализации настоящего изобретения способ также включает введение химиотерапевтического лекарственного средства, лучевой терапии. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект также получает лечение гормон-подавляющей терапией или терапией антагонистом гормона.

[0354] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения варианты лечения могут быть введены пациенту или субъекту внутривенным, интраперитонеальным, внутримышечным, внутриопухолевым или внутрикожным путем. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения осуществление контакта включает введение конструкции напрямую в рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы или его метастазы.

[0355] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обнаружения раковой клетки у субъекта посредством осуществления контакта раковой клетки с конструкцией, которая несет поддающийся обнаружению маркер. Способы можно применять при проведении скрининга пациентов, подверженных повышенному риску рака, или для контроля над ответом на терапию либо для составления прогноза рака (например, типов рака предстательной железы, мочевого пузыря или поджелудочной железы). Способы обеспечивают особенные преимущества при обнаружении метастазов рака. В настояще документе предложены минифрагменты антитела со способностью нацеливания/визуализации опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в отношении конструкций, описанных в настоящем документе, существует оговорка, что конструкция содержит домен VH или VL, который не идентичен соответствующему домену или антителу 2B3.

[0356] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с «эффекторной» молекулой. Эффекторная молекула может представлять собой любое количество молекул, включая молекулы-метки, такие как радиоактивные метки или флуоресцентные метки, или может представлять собой терапевтическую молекулу. Согласно одному аспекту антитело модулирует активность белка. Такие эффекторные молекулы включают, без

ограничения, противоопухолевое лекарственное средство, токсин, радиоактивное средство, цитокин, второе антитело или фермент. Также в настоящем документе описаны варианты реализации, в которых антигенсвязывающая конструкция присоединена к ферменту, который преобразует пролекарство в цитотоксическое средство. Примеры цитотоксических средств включают, без ограничения, рицин, доксорубицин, даунорубицин, таксол, бромид этидия, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, дигидроксиантрациндион, актиномицин D, дифтерийный токсин, экзотоксин Pseudomonas (PE) A, PE40, абрин и глюкокортикоид и другие химиотерапевтические средства, а также радиоактивные изотопы. Подходящие поддающиеся обнаружению маркеры включают, без ограничения, радиоактивный изотоп, флуоресцентное соединение, биолюминесцентное соединение, хемилюминесцентное соединение, хелатор металла или фермент.

[0357] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие белковые конструкции можно применять для системного лечения рака сами по себе или при конъюгации с эффекторной молекулой. Нацеленные на АСКП конструкции, конъюгированные с токсическими средствами, такими как рицин, а также неконъюгированные антитела могут быть подходящими терапевтическими средствами, от природы нацеленными на раковые клетки, несущие АСКП. Такие конструкции могут быть подходящими для блокировки инвазивности.

[0358] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие белковые конструкции можно применять для лечения рака. В данной ситуации конструкцию присоединяют к по меньшей мере функционально активной части второго белка или токсичной молекулы, обладающей терапевтической активностью. Второй белок может содержать, без ограничения, фермент, лимфокин, онкостатин или токсин. Подходящие токсины включают доксорубицин, даунорубицин, таксол, бромид этидия, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, дигидроксиантрациндион, актиномицин D, дифтерийный токсин, экзотоксин Pseudomonas (PE) A, PE40, рицин, абрин, глюкокортикоид и радиоактивные изотопы.

[0359] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения лечение, как правило, будет включать повторное введение конструкций и их иммуноконъюгатов посредством подходящего пути введения, такого как внутривенная инъекция (N), в эффективной дозе. Дозы будут зависеть от различных факторов, как правило, принимаемых во внимание специалистами в данной области техники, включая, без ограничения, тип и тяжесть рака, степень или стадию рака, аффинность связывания и период полужизни применяемых средств, целевой уровень равновесной концентрации антитела, частоту лечения и влияние химиотерапевтических средств, применяемых в комбинации со способом лечения согласно вариантам реализации, описанным в настоящем изобретении. Обычные дневные дозы могут варьировать от приблизительно 0,1 до 100 мг/кг. Дозы в диапазоне 10-500 мг конструкций или их иммуноконъюгатов в неделю могут быть эффективными и хорошо переносимыми, хотя даже более высокие еженедельные дозы могут являться соответствующими и/или хорошо переносимыми. Принципиальным определяющим фактором при определении соответствующей дозы является количество конкретного средства, необходимое для того, чтобы являться терапевтически эффективным в конкретном контексте. Повторные введения могут быть необходимы для достижения ингибирования или регрессии опухоли. Начальные нагрузочные дозы могут являться более высокими. Начальную нагрузочную дозу можно вводить в виде инфузии. Периодические поддерживающие дозы можно вводить аналогичным способом, при условии, что начальная доза является хорошо переносимой.

[0360] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения также возможно прямое введение конструкции, которое может характеризоваться преимуществами в определенных контекстах. Например, для лечения карциномы мочевого пузыря можно инъецировать средства напрямую в мочевой пузырь.

[0361] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения композиции можно вводить для терапевтических или профилактических вариантов лечения. При терапевтических применениях композиции вводят пациенту, страдающему от заболевания (например, рака), в «терапевтически эффективной дозе». Количества, эффективные для данного применения, будут зависеть от тяжести заболевания и общего состояния здоровья пациента. Однократные или многократные введения композиций можно проводить в зависимости от дозы и частоты, которые требуются и переносятся пациентом. Другие известные варианты терапии рака можно применять в комбинации со способами, описанными в настоящем документе. Например, композиции, описанные в настоящем документе, можно также применять для нацеливания или сенсибилизации клетки к другим противораковым терапевтическим средствам, таким как 5FU, винбластин, актиномицин D, цисплатин, метотрексат и т.п.

[0362] Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения способы можно реализовать на практике вместе с другими вариантами терапии рака (например, радикальной простатэктомией), с лучевой терапией (внешним пучком или близкофокусной лучевой терапией), гормональной терапией (например, орхиэктомия, терапия аналогами РФЛГ (рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона) для подавления наработки тестостерона, антиандрогеновая терапия), или химиотерапией.

[0363] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы визуализации раковых клеток или опухолей in vivo посредством введения антител, таких как миниантитела, описанные в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения предложен способ визуализации раковой клетки in vivo, причем указанный способ включает введение млекопитающему меченного антитела против АСКП и визуализацию антитела in vivo. Способы можно применять для визуализации раковой клетки в млекопитающем, включая, без ограничения, мышь, крысу, хомяка, кролика, свинью, человека и т.п.

[0364] Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретения предложены способы лечения субъекта, страдающего от рака, или способы ингибирования роста клетки рака предстательной железы, экспрессирующей белок антиген стволовых клеток предстательной железы (АСКП), причем указанный способ включает осуществление контакта раковой клетки (например, клетки рака предстательной железы, мочевого пузыря, поджелудочной железы) с конструкцией, описанной в настоящем изобретении, в количестве, эффективном для ингибирования роста раковой клетки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способы находят конкретное применение в диагностике, прогнозировании и лечении типов рака, которые сверхэкспрессируют АСКП, например, типов рака предстательной железы, поджелудочной железы и мочевого пузыря. Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения способы применяют в отношении трудноподдающихся гормонотерапии или резистентных к терапии типов рака. Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения способы применяют в отношении метастатических типов рака.

[0365] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено миниантитело, которое связывается с АСКП. Миниантитело содержит полипептид, содержащий одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который

связывается с АСКП, причем scFv содержит вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L); и вариант шарнирной области, содержащий по меньшей мере три цистеина на каждой цепи шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы.

[0366] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело согласно настоящему документу содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 93; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 94; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 95; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 96; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 97; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 98. Согласно некоторым вариантам реализации миниантитела, описанного в настоящем документе, вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L) представляют собой последовательности человека.

[0367] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, продуцирующая любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен набор, содержащий любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, и поддающийся обнаружению маркер.

[0368] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ обнаружения присутствия или отсутствия АСКП. Способ включает применение любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, в отношении образца, и обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции с АСКП. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы. Согласно некоторым вариантам реализации способа применение миниантитела включает введение миниантитела субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации способа обнаружение связывания или отсутствия связывания миниантитела с антигеном-мишенью включает позитронно-эмиссионную томографию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ также включает применение вторичного антитела или его фрагмента в отношении образца, причем вторичное антитело или его фрагмент специфично связывается с миниантителом. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело инкубируют с образцом в течение не более 1 часа.

[0369] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания терапевтического средства на АСКП. Способ включает введение субъекту любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, причем миниантитело конъюгировано с терапевтическим

средством.

[0370] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания на АСКП у субъекта, который нуждается в таком нацеливании. Способ включает введение субъекту миниантитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации способа субъект страдает от по меньшей мере одного или нескольких состояний из опухоли предстательной железы, рака предстательной железы, опухоли мочевого пузыря, переходной карциномы мочевого пузыря, опухоли поджелудочной железы, карциномы поджелудочной железы, любой опухоли, связанной с экспрессией АСКП, любого рака, связанного с экспрессией АСКП, или любого нарушения, связанного с экспрессией АСКП.

[0371] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена антигенсвязывающая конструкция (такая как миниантитело или scFv), которая связывается с АСКП, антигенсвязывающая конструкция (такая как миниантитело или scFv), содержащая шарнирную область, причем шарнирная область содержит по меньшей мере одну последовательность из следующих: a) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи, где X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту; b) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}\ X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой идентичной аминокислотой, где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 208); c) центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ ID NO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к последовательности верхнего шарнира ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48); или d) верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой, и центральную шарнирную область, присоединенную к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция представляет собой полноразмерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой миниантитело. Согласно некоторым вариантам реализации антигенсвязывающей конструкции (такой как миниантитело или scFv) помимо шарнирной области антигенсвязывающая конструкция (такая как миниантитело или scFv) содержит гуманизированную аминокислотную

последовательность. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция (такая как миниантитело или scFv) содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 93; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 94; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 95; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 96; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 97; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 98.

[0372] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая шарнирную область любого из вариантов реализации антигенсвязывающих конструкций (таких как миниантитело или scFv), описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации нуклеиновой кислоты помимо последовательности, кодирующей шарнирную область, нуклеиновая кислота содержит последовательность человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, экспрессирующих антигенсвязывающую конструкцию (такую как миниантитело или scFv), кодируемую нуклеиновой кислотой.

[0373] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ получения антигенсвязывающей конструкции (такой как миниантитело или scFv) согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе, причем указанный способ включает экспрессию антитела в линии клеток.

[0374] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения состояния у субъекта, который нуждается в таком лечении, причем указанный способ включает введение субъекту антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе.

ПСМЛ-IAB2M

[0375] Были разработаны полноразмерные антитела, нацеленные на ПСМА, некоторые из которых находятся на различных стадиях доклинической и клинической разработки. ПСМА изначально был определен с помощью антитела мыши (МАТ) 7E11, которое распознает внутриклеточный эпитоп ПСМА (Olson, W. C. et al., "Clinical trials of cancer therapies targeting prostate-specific membrane antigen," Rev. Recent Clin. Trials, Vol. 2, No. 3, pp. 182-190, 2007). Позже на основе МАТ 7E11 было разработано одобренное FDA (Food and Drug Administration, Управлением США по контролю над продуктами питания и лекарственными средствами) средство для визуализации методом ОЭКТ, названное Простасцинт (Prostascint), для обнаружения и визуализации рака предстательной железы в мягких тканях. Однако, поскольку 7E11 распознает внутриклеточный эпитоп, Простасцинт является относительно слабым средством для визуализации, которое ограничено обнаружением некротической опухолевой ткани (Olson, W.C. et al., 2007). Поскольку Простасцинт обладает фармакокинетическими свойствами полноразмерного антитела, для него также требуется длительный период времени между инъекцией и визуализацией. Более того, Простасцинт является антителом мыши, вызывающим сильные иммунные ответы, которые препятствуют многократному введению доз (Olson, W. C. et al., 2007).

[0376] Другое полноразмерное антитело, нацеленное на ПСМА, J591, было обнаружено и впоследствии деиммунизировано; деиммунизированная версия известна как huJ591 (Liu, H. et al., "Monoclonal antibodies to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen also react with tumor vascular endothelium", Cancer Research, Vol. 57, No. 17, pp. 3629-3634, 1997; Bander, N. H. et al., "Targeting Metastatic Prostate Cancer with Radiolabeled Monoclonal Antibody J591 to the Extracellular Domain of Prostate Specific

Membrane Antigen," J. Urol, Vol. 170, No. 5, pp. 1717-1721, 2003). Деиммунизированное huJ591 представляет собой антитело против ПСМА человека, которое распознает и связывается с внеклеточным эпитопом на ПСМА (Bander, N. H. et al., 2003). Проводится разработка антитела huJ591 как потенциального радиоиммунотерапевтического средства против рака предстательной железы. В исследованиях фазы I конъюгированное с DOTA антитело huJ591, меченное гамма-испускающими изотопами Индием-111 и Лютецием-177, продемонстрировало превосходное нацеливание на метастатические участки, отсутствие иммуногенности, и многократные дозы являлись хорошо переносимыми (Bander, N.H. et al., 2003, Milowsky, M.I. et al., "Phase I Trial of yttrium-90-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for androgen-independent prostate cancer," J. Clin. Oncol., Vol. 22, No. 13, pp. 2522-2531, 2004; Bander, N.H. et al., "Phase I trial of 177 Lutetium-labeled J591, a monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen, in patients with androgen-independent prostate cancer," J. Clin. Oncol., Vol.23, No. 21, pp.4591-4601,2005; Olson, W. C. et al., 2007). Помимо рака предстательной железы, исследования I фазы с ^{111}In-DOTA huJ591 продемонстрировали специфичное нацеливание на новообразованные сосуды опухоли солидных опухолей на поздних стадиях (Milowsky, M.I. et al., "Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors," J. Clin. Oncol., Vol. 25, No. 5, pp. 540-547, 2007).

[0377] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном ПСМА, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или другие фрагменты антител, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против ПСМА представлены на ФИГ. 5B-5E, 7C-7E, 21B-21E, 34A-34F, 35A-35C, 36A, 47 (SEQ ID NO: 112 и 113), 48 (SEQ ID NO: 113), 49 (SEQ ID NO: 114), 50 (SEQ ID NO: 115), 51 (SEQ ID NO: 116), 52 (SEQ ID NO: 117), 53 (SEQ ID NO: 118).

[0378] Простатический специфический мембранный антиген (ПСМА), биомаркер поверхности клетки, связанный с раком предстательной железы (Slovin, S. F., "Targeting novel antigens for prostate cancer treatment: focus on prostate-specific membrane antigen," Expert Opin. Ther. Targets, Vol. 9, No. 3, pp. 561-570, 2005), представляет собой одноканальный трансмембранный белок типа II, обладающий глутаматкарбоксипептидазной активностью, несмотря на то, что функциональная роль ПСМА еще полностью не ясна (Olson, W.C. et al., 2007). Экспрессия ПСМА относительно ограничена в нормальных тканях за пределами предстательной железы, включая головной мозг, тонкий кишечник, печень, проксимальные канальцы почек и слюнные железы (Olson, W.C. et al., 2007). Пример белка ПСМА представлен в SEQ ID NO: 131.

[0379] Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретения предложены антигенсвязывающие конструкции, такие как миниантитела, нацеленные на простатический специфический мембранный антиген (ПСМА). Антигенсвязывающую конструкцию против ПСМА можно конъюгировать с веществом, таким как диагностическое средство, терапевтическое средство или наночастица, с образованием конъюгата против ПСМА. Также раскрыты способы, включающие применение конструкции, связывающей антиген ПСМА, или конъюгата против ПСМА для диагностики, визуализации, мониторинга или лечения рака или других состояний, связанных со сверхэкспрессией ПСМА.

[0380] В настоящем изобретения предложены антигенсвязывающие конструкции против ПСМА согласно вариантам реализации, описанным в настоящем документе. Антигенсвязывающая конструкция против ПСМА представляет собой молекулу, которая содержит одну или более частей иммуноглобулина или родственной

иммуноглобулину молекулы, которая специфично связывается с ПСМА или является иммунологически реактивной с ПСМА.

[0381] Антигенсвязывающую конструкцию против ПСМА или конъюгат против ПСМА можно применять для нацеливания на ПСМА-положительную клетку, такую как раковые клетки, которые сверхэкспрессируют ПСМА.

[0382] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ диагностики рака, связанного с экспрессией ПСМА, у субъекта. Такой способ включает введение субъекту, страдающему от рака, связанного с экспрессией ПСМА, или который, как предполагают, страдает от рака, связанного с экспрессией ПСМА, миниантитела против ПСМА, конъюгированного с диагностическим средством; осуществление способа визуализации у субъекта для визуализации меченного миниантитела in vivo; и определение того, что субъект страдает от рака, связанного с экспрессией ПСМА, если меченное миниантитело локализуется в участке опухоли.

[0383] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения рака, связанного с экспрессией ПСМА, у субъекта.

Некоторые варианты реализации настоящего изобретения включают введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, причем указанная композиция содержит миниантитело против ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело против ПСМА конъюгировано с терапевтическим средством.

[0384] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конъюгат против ПСМА может содержать антигенсвязывающую конструкцию против ПСМА (такую как миниантитело или scFv), конъюгированную с терапевтическим средством. «Терапевтическое средство» в настоящем документе представляет собой атом, молекулу или соединение, которые являются подходящими для лечения рака или других состояний, связанных с ПСМА. Примеры терапевтических средств включают, без ограничения, лекарственные средства, химиотерапевтические средства, терапевтические антигенсвязывающие конструкции, токсины, радиоактивные изотопы, ферменты (например, ферменты для расщепления пролекарств на цитотоксическое средство в участке опухоли), нуклеазы, гормоны, иммуномодуляторы, антисмысловые олигонуклеотиды, хелаторы, соединения бора, фотоактивные средства и красители.

[0385] Химиотерапевтические средства в природе часто являются цитотоксическими или цитостатическими и могут включать алкилирующие средства, антиметаболиты, противоопухолевые антибиотики, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы митоза, гормональную терапию, таргетные терапевтические средства и иммунотерапевтические средства. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения химиотерапевтические средства, которые можно применять в качестве диагностических средств согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, 13-цис-ретиноевую кислоту, 2-хлордезоксиаденозин, 5-азацитидин, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, актиномицин-D, адриамицин, алдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, полностью трансретиноевую кислоту, альфа-интерферон, алтретамин, аметоптерин, амифостин, анагрелид, анастрозол, арабинозилцитозин, триоксид мышьяка, амсакрин, аминокампотецин, аминоглутетимид, аспарагиназу, азацитидин, бациллу Кальмета-Герена (BCG), бендамустин, бевацизумаб, бексаротен, бикалутамид, бортезомиб, блеомицин, бусульфан, кальций-лейковорин, цитроворум фактор, капецитабин, канертиниб, карбоплатин, кармустин, цетуксимаб, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, кортизон, циклофосфамид, цитарабин, дарбэпоэтин альфа,

дасатиниб, дауномицин, децитабин, денилейкин дифтитокс, дексаметазон, дексазон, декстразоксан, дактиномицин, даунорубицин, декарбазин, доцетаксел, доксорубицин, доксифлуридин, энилурацил, эпирубицин, эпоэтин альфа, эрлотиниб, эверолимус, эксеместан, эстрамустин, этопозид, филграстим, флуоксиместерон, фулвестрант, флавопиридол, флоксуридин, флударабин, фторурацил, флутамид, гефитиниб, гемцитабин, гемтузумаб озогамицин, госерелин, колониестимулирующий фактор гранулоцитов, колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов, гексаметилмеламин, гидрокортизона гидроксимочевину, ибритумомаб, интерферон альфа, интерлейкин-2, интерлейкин-11, изотретинион, иксабепилон, идарубицин, иматиниба мезилат, ифосфамид, иринотекан, лапатиниб, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролид, липосомный Ara-C, ломустин, мехлорэтамин, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, месну, метотрексат, метилпреднизолон, митомицин С, митотан, митоксантрон, неларабин, нилутамид, октреотид, опрелвекин, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, пеметрексед, панитумумаб, ПЭГ-интерферон, ПЭГ-аспаргазу, ПЭГ-филграстим, ПЭГ-L-аспарагиназу, пентостатин, пликамицин, преднизолон, преднизон, прокарбазин, ралоксифен, ритуксимаб, ромиплостим, ралитрексед, сапацитабин, сарграмостин, сатраплатин, сорафениб, сунитиниб, семустин, стрептозоцин, тамоксифен, тегафур, тегафур-урацил, темсиролимус, темозоломид, тенипозид, талидомид, тиогуанин, тиотепу, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трастузумаб, третиноин, тримитрексат, алрубицин, винкристин, винбластин, виндестин, винорелбин, вориностат или золедроновую кислоту.

[0386] Терапевтические антитела и их функциональные фрагменты, которые можно применять в качестве диагностических средств согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, алемтузумаб, бевацизумаб, цетуксимаб, эдреколомаб, гемтузумаб, ибритутомаб тиуксетан, панитумумаб, ритуксимаб, тозитумомаб и трастузумаб.

[0387] Антигенсвязывающую конструкцию против ПСМА или конъюгат против ПСМА можно применять для нацеливания на ПСМА-положительную клетку, такую как раковые клетки, которые сверхэкспрессируют ПСМА. Вследствие этого способы диагностики, обнаружения, визуализации, мониторинга или лечения рака или другого состояния, связанного с экспрессией ПСМА, могут включать введение субъекту, страдающему от рака или другого состояния, связанного с экспрессией ПСМА, или который, как предполагают, страдает от рака или другого состояния, связанного с экспрессией ПСМА, антигенсвязывающей конструкции против ПСМА или конъюгата против ПСМА.

[0388] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы лечения рака или другого состояния, связанного со сверхэкспрессией ПСМА. Такие способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, которая содержит антигенсвязывающую конструкцию против ПСМА, описанную в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция против ПСМА представляет собой миниантитело, полученное из антитела J591, такое как такие миниантитела J591, описанные в настоящем документе.

[0389] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтическая композиция может содержать терапевтический конъюгат против ПСМА, причем конъюгат содержит антигенсвязывающую конструкцию против ПСМА, конъюгированную с одним или несколькими терапевтическими средствами, описанными в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего

изобретения антигенсвязывающая конструкция против ПСМА получена из антитела J591, такого как такие миниантитела J591, описанные в настоящем документе. Например, миниантитела J591, описанные в настоящем документе, можно применять в подходе радиоиммунотерапии, в котором одно или более миниантител J591 метят радиоактивным изотопом с соответствующей бета-испускающей радиоактивной меткой, такой как Иттрий-90. Меченное радиоактивным изотопом миниантитело или миниантитела J591 можно применять для обеспечения повреждения и гибели клетки в локальной раковой ткани, которая экспрессирует ПСМА. Также применение меченных радиоактивным изотопом миниантител J591, вероятно, будет спровождаться улучшенным проникновением в опухоль по сравнению с меченным радиоактивным изотопом полноразмерным родительским антителом huJ591.

[0390] Терапевтический конъюгат против ПСМА можно конъюгировать или связать с одним или несколькими дополнительными веществами, описанными в настоящем документе, такими как диагностические конъюгаты против ПСМА (описанные в настоящем документе), неконъюгированные диагностические средства, контрастные растворы, липидные носители или наночастицы.

[0391] Экспрессия ПСМА в раке предстательной железы повышается с увеличением агрессивности опухоли и является наивысшей в опухолях высокой степени злокачественности, метастатических поражениях и андроген-независимом заболевании (Olson, W.C. et al., 2007). Вследствие этого ПСМА представляет собой биомаркер рака, который является хорошим кандидатом для нацеливания посредством средства визуализации. Экспрессия ПСМА также повышающе регулируется в новообразованных сосудах множества солидных опухолей, отличных от опухолей предстательной железы, включая карциному легких, толстой кишки, молочной железы, почек, печени и поджелудочной железы, а также саркомы и меланомы (Olson, W.C. et al., 2007).

[0392] Рак, связанный с экспрессией ПСМА у субъекта, может представлять собой рак легких, рак толстой и прямой кишок, рак молочной железы, рак почек, рак печени, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы или меланому. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения «ПСМА-зависимое нарушение» может включать: рак легких, рак толстой и прямой кишок, рак молочной железы, рак почек, рак печени, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы или меланому.

[0393] Более того, «ПСМА-зависимое нарушение» может также включать те типы рака, которые связаны с экспрессией ПСМА, включая таковые, которые содержат раковую опухолевую ткань, сверхэкспрессирующую ПСМА (например, рак предстательной железы), или таковые, которые содержат новообразованные сосуды солидной опухоли, сверхэкспрессирующие ПСМА (например, рак предстательной железы, рак легких, рак толстой кишки (или толстой и прямой кишок), молочной железы, рак почек, рак печени, рак мочевого пузыря и рак поджелудочной железы, а также саркомы и меланомы). Большинство новообразованных сосудов солидной опухоли экспрессируют ПСМА, что делает ПСМА биомаркером новообразованных сосудов. Таким образом, помимо раковых клеток, экспрессирующих ПСМА, рак, который связан с экспрессией ПСМА, может включать любую раковую ткань с новообразованными сосудами, включая, без ограничения, карциномы, такие как рак предстательной железы, рак легких, рак толстой кишки (или толстой и прямой кишок), рак молочной железы, рак почек, рак печени, рак мочевого пузыря и рак поджелудочной железы, а также саркомы и меланомы.

[0394] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

предложено миниантитело, которое связывается с ПСМА. Миниантитело содержит полипептид, который содержит одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с ПСМА, scFv, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L); и вариант шарнирной области, содержащий по меньшей мере три цистеина на каждой цепи шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы.

[0395] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело согласно настоящему документу содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 81; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 82; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 83; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 84; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 85; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 86. Согласно некоторым вариантам реализации миниантитела, описанного в настоящем документе, вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L) представляют собой последовательности человека.

[0396] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, продуцирующая любые из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен набор, содержащий любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, и поддающийся обнаружению маркер.

[0397] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ обнаружения присутствия или отсутствия ПСМА. Указанный способ включает: применение любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, в отношении образца; и обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции с ПСМА. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы. Согласно некоторым вариантам реализации способа применение миниантитела включает введение миниантитела субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации способа обнаружение связывания или отсутствия связывания миниантитела с антигеном-мишенью включает позитронно-эмиссионную томографию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ также включает применение вторичного антитела или его фрагмента в отношении образца, причем вторичное антитело или его фрагмент специфично связывается с миниантителом. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело инкубируют с образцом в течение не более 1 часа.

[0398] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания терапевтического средства на ПСМА. Способ включает

введение субъекту любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, причем миниантитело конъюгировано с терапевтическим средством.

[0399] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания на ПСМА у субъекта, который нуждается в таком нацеливании. Способ включает введение субъекту миниантитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации способа субъект страдает от по меньшей мере одной из опухолей или рака, или нарушения функции предстательной железы, головного мозга, тонкого кишечника, печени, проксимальных канальцев почек, слюнных желез. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания на ПСМА в новообразованных сосудах солидной опухоли на поздней стадии.

[0400] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с ПСМА. Антитело содержит шарнирную область, причем шарнирная область содержит по меньшей мере одну последовательность из следующих: a) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи, где X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту; b) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой идентичной аминокислотой, где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 208); c) центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ ID NO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к последовательности верхнего шарнира согласно ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48); или d) верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой, и центральную шарнирную область, присоединенную к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой полноразмерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой миниантитело. Согласно некоторым вариантам реализации антитела помимо шарнирной области антитело содержит гуманизированную аминокислотную последовательность. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 81; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 82; HCDR3

согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 83; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 84; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 85; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 86.

[0401] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая шарнирную область любого из вариантов реализации антитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации нуклеиновой кислоты помимо последовательности, кодирующей шарнирную область, нуклеиновая кислота содержит последовательность человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, экспрессирующих антитело, кодируемое нуклеиновой кислотой.

[0402] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ получения антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе, причем указанный способ включает экспрессию антитела в линии клеток.

[0403] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения состояния у субъекта, который нуждается в таком лечении, причем указанный способ включает введение субъекту антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе.

CD8-IAB22M

[0404] CD8 (кластер дифференциации, cluster of differentiation 8) представляет собой трансмембранный гликопротеин, который является специфичным маркером подкласса Т-клеток, включая цитотоксичные Т-клетки. Экспрессия CD8 также присутствует на некоторых природных киллерах и дендритных клетках, а также на субпопуляции Т-клеточных лимфом. CD8 собирается в гетеродимер субъединиц CD8 альфа и CD8 бета или гомодимер CD8 альфа. Собранный димерный комплекс CD8 выступает в качестве корецептора вместе с Т-клеточным рецептором (T-cell receptor, TCR) для распознавания презентации антигена клетками MHC класса I. CD8 играет роль в развитии Т-клеток и активации зрелых Т-клеток. Изменения в локализации Т-клеток могут отражать прогрессирование иммунного ответа и могут возникать со временем. Примеры субъединиц CD8 представлены в SEQ ID NO: 134 и 135.

[0405] В настоящем документе описаны антигенсвязывающие конструкции, включая антитела и их фрагменты, такие как миниантитела, которые связываются с молекулой-мишенью, CD8. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном CD8, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или другие фрагменты антител, такие как scFv. Некоторые варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против CD8 представлены на ФИГ. 14E, 15D, 16B-16D, 20C-20G, 22B, 36B, 40 (SEQ ID NO: 105 и 106), 41 (SEQ ID NO: 106), 42 (SEQ ID NO: 107), 43 (SEQ ID NO: 108), 44 (SEQ ID NO: 109), 45 (SEQ ID NO: 110), 46 (SEQ ID NO: 111), 66.

[0406] Некоторые варианты реализации, описанные в настоящем документе, относятся к способу нацеливания терапевтического средства на CD8. Способ может включать введение субъекту антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе, например, антигенсвязывающей конструкции против CD8. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с терапевтическим средством.

[0407] Антигенсвязывающие конструкции могут быть подходящими для обнаружения присутствия, локализации и/или количеств молекулы-мишени (CD8 и/или CD8 + клеток, например, определенных классов Т-клеток). Такие антигенсвязывающие конструкции

могут также быть подходящими для нацеливания терапевтических средств на клетки, которые экспрессируют молекулу-мишень. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия молекулы-мишени (или «мишени») с применением антигенсвязывающих конструкций (включая антитела и конструкции, такие как миниантитела). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы применения антигенсвязывающих конструкций для терапевтических целей.

[0408] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции обеспечивают обнаружение CD8 человека, который является специфичным биомаркером, обнаруженным на субпопуляции Т-клеток, для диагностической визуализации иммунной системы. Визуализация CD8 обеспечивает обнаружение локализации Т-клеток in vivo. Изменения локализации Т-клеток могут отражать прогрессирование иммунного ответа и могут возникать со временем в результате различных терапевтических вариантов лечения или даже состояний заболевания.

[0409] Помимо этого, CD8 играет роль в активации расположенных ниже путей передачи сигналов, которые являются важными для активации цитолитических Т-клеток, которые функционируют для избавления от вирусных патогенов и обеспечения иммунитета против опухолей. CDS-положительные Т-клетки могут распознавать короткие пептиды, презентированные белком MHCI антиген-презентирующих клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения сконструированные фрагменты, направленные на CD8, могут усиливать передачу сигналов через Т-клеточный рецептор и усиливать способность субъекта избавляться от вирусных патогенов и отвечать на антигены опухоли. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, описанные в настоящем документе, могут представлять собой агонисты и могут активировать мишень CD8.

[0410] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения обнаруживают присутствие или отсутствие мишени, CD8. Присутствие или отсутствие мишени можно обнаружить на основании присутствия или отсутствия антигенсвязывающей конструкции в образце. После удаления и/или устранения антигенсвязывающей конструкции из образца, например, посредством промывки и/или метаболического устранения, оставшаяся в образце антигенсвязывающая конструкция может свидетельствовать о присутствии мишени, тогда как отсутствие антигенсвязывающей конструкции в образце может свидетельствовать об отсутствии мишени.

[0411] Некоторые варианты реализации включают обнаружение CD8 человека, который является специфичным биомаркером, обнаруженным на субпопуляции Т-клеток, для диагностической визуализации иммунной системы. Визуализация молекулы-мишени может обеспечить обнаружение локализации Т-клеток in vivo. Изменения локализации Т-клеток могут отражать прогрессирование иммунного ответа и могут возникать со временем в результате различных терапевтических вариантов лечения или даже состояний заболевания. Например, визуализация локализации Т-клеток может быть подходящей в иммунотерапии. Адоптивная иммунотерапия представляет собой форму терапии, в которой с собственными Т-клетками пациента манипулируют in vitro и повторно вводят пациенту. При данной форме лечения визуализация Т-клеток может быть подходящей для мониторинга и/или определения статуса лечения. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения мониторинг

локализации молекулы-мишени может являться подходящим для анализа механизма действия, эффективности и/или безопасности при разработке лекарственных средств и/или может способствовать клиническому ведению заболевания.

[0412] Некоторые варианты реализации, описанные в настоящем документе, относятся к способу нацеливания терапевтического средства на CD8. Способ может включать введение субъекту антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе, например, антигенсвязывающей конструкции против CD8. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с терапевтическим средством.

[0413] Токсины, которые можно применять в качестве поддающихся обнаружению маркеров согласно вариантам реализации настоящего изобретения, включают, без ограничения, рицин, абрин, рибонуклеазу (РНКазу), ДНКазу I, стафилококковый энтеротоксин A, антивирусный белок фитолакки, гелонин, дифтерийный токсин, экзотоксин Pseudomonas и эндотоксин Pseudomonas.

[0414] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения наночастицы применяют в терапевтических применениях в качестве носителей лекарственных средств, которые при конъюгации с антигенсвязывающей конструкцией доставляют химиотерапевтические средства, гормональные терапевтические средства, радиотерапевтические средства, токсины или любое другое цитотоксическое или противораковое средство, известное в данной области техники, к раковым клеткам, которые сверхэкспрессируют мишени на поверхности клетки.

[0415] Антигенсвязывающие конструкции можно применять для нацеливания терапевтической молекулы, например, цитотоксина, на мишень-положительную клетку, такую как клетка, экспрессирующая CD8. Таким образом, некоторые варианты реализации настоящего изобретения включают способы нацеливания терапевтического средства на мишень-положительную клетку. Способ может включать введение субъекту антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе. Субъект может представлять собой субъекта, который нуждается, например, субъекта, который нуждается в устранении или нейтрализации по меньшей мере некоторых мишень-положительных клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит по меньшей мере одно терапевтическое средство, описанное в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтическое средство может быть напрямую конъюгировано с антигенсвязывающей конструкцией посредством ковалентной связи, такой как дисульфидная связь. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект может получить пользу от локализации CD8-положительной клетки к другой клетке или средству.

[0416] Необязательно, перед и/или после введения антигенсвязывающей конструкции, которая содержит по меньшей мере одно терапевтическое средство, определяют количество и/или локализацию мишень-положительных клеток пациента. Например, определение количества и/или локализации мишень-положительных клеток до введения может свидетельствовать, получит ли пациент вероятную пользу от нейтрализации и/или устранения мишень-положительных клеток. Определение количества и/или локализации мишень-положительных клеток после введения может свидетельствовать о том, были ли мишень-положительные клетки устранены у пациента.

[0417] Термин «C08-зависимое нарушение» включает типы рака, для которых существует иммунологический компонент (включая ответ на иммунотерапию рака), аутоиммунные нарушения, воспалительные нарушения и т.д.

[0418] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено миниантитело, которое связывается с CD8. Миниантитело содержит полипептид, содержащий одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с CD8, причем scFv содержит вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L); и вариант шарнирной области, содержащий по меньшей мере три цистеина на каждой цепи шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы.

[0419] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело согласно настоящему документу содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 75; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 76; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 77; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 78; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 79; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 80. Согласно некоторым вариантам реализации миниантитела, описанного в настоящем документе, вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L) представляют собой последовательности человека.

[0420] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, продуцирующая любые из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен набор, содержащий любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, и поддающийся обнаружению маркер.

[0421] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ обнаружения присутствия или отсутствия CD8. Указанный способ включает применение любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, в отношении образца; и обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции с CD8. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы. Согласно некоторым вариантам реализации способа применение миниантитела включает введение миниантитела субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации способа обнаружение связывания или отсутствия связывания миниантитела с CD8 включает позитронно-эмиссионную томографию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ также включает применение вторичного антитела или его фрагмента в отношении образца, причем вторичное антитело или его фрагмент специфично связывается с миниантителом. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело инкубируют с образцом в течение не более 1 часа.

[0422] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

предложен способ нацеливания терапевтического средства на CD8. Способ включает введение субъекту любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, причем миниантитело конъюгировано с терапевтическим средством.

[0423] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания на клетку Т-лимфоцит, экспрессирующую CD8, у субъекта, который нуждается в таком нацеливании. Способ включает введение субъекту миниантитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нейтрализации клетки Т-лимфоцита, экспрессирующей CD8. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект содержит по меньшей мере одну из следующих клеток: CD8 Т-клетки с подавленным иммунитетом, CD8 Т-клетки с нарушенной функцией, аутореактивные CD8 Т-клетки, сверхреактивные CD8 Т-клетки, ингибиторные CD8 Т-клетки, CD8 Т-клетки с нарушенной локализацией или CD8 Т-клеточную лимфому. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект содержит CD8 Т-клетки, связанные по меньшей мере с одним заболеванием из ревматоидного артрита, множественного склероза, диабета, системной красной волчанки, аутоиммунного заболевания, воспалительного состояния, дефекта передачи сигналов или костимуляторного дефекта.

[0424] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с CD8. Антитело содержит шарнирную область, причем шарнирная область содержит по меньшей мере одну последовательность из следующих: a) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи, где X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту; b) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}\ X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой идентичной аминокислотой, где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 208); c) центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ IDNO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к последовательности верхнего шарнира согласно ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48);

или d) верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой, и центральную шарнирную область, присоединенную к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина. Согласно

некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой полноразмерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой миниантитело. Согласно некоторым вариантам реализации антитела помимо шарнирной области антитело содержит гуманизированную аминокислотную последовательность. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 75; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 76; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 77; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 78; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 79; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 80.

[0425] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая шарнирную область любого из вариантов реализации антитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации нуклеиновой кислоты помимо последовательности, кодирующей шарнирную область, нуклеиновая кислота содержит последовательность человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, экспрессирующих антитело, кодируемое нуклеиновой кислотой.

[0426] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ получения антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе, причем указанный способ включает экспрессию антитела в линии клеток.

[0427] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения состояния у субъекта, который нуждается в таком лечении, причем указанный способ включает введение субъекту антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе.

5T4-IAB20M

[0428] 5T4 представляет собой онкофетальный гликопротеин, который характеризуется слабой экспрессией в немногих тканях взрослых, но мощной экспрессией в различных типах карцином, включая рак толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и предстательной железы. Экспрессия 5T4 обнаружена в первичных и метастатических типах рака, и уровень экспрессии коррелирует с прогрессированием заболевания, что делает 5T4 весьма перспективным биомаркером. Пример белка 5T4 представлен в SEQ ID NO: 133.

[0429] 5T4-специфичное визуализирующее средство может обеспечить значительное преимущество с точки зрения специфичности по сравнению с другими визуализирующими средствами, такими как ФДГ (фтордезоксиглюкоза), в основе работы которых лежит обнаружение изменений метаболизма. Более того, визуализирующие средства, которые специфично нацелены на 5T4, могут представлять собой ценный инструмент при разработке вариантов терапии, нацеленных на 5T4. Например, визуализирующее средство можно применять для мониторинга пациентов после лечения терапией, нацеленной на 5T4. В случае рака предстательной железы на рынке представлено одобренное FDA средство для визуализации методом ОЭКТ, названное Простасцинт, однако данное средство характеризуется значительными ограничениями, поскольку является интактным антителом мыши (проблема с иммуногенностью при повторном введении), а эпитоп является внутренним эпитопом биомаркера ПСМА (что ограничивает точность). Антигенсвязывающие конструкции против 5T4 согласно настоящему изобретению могут обладать значительными преимуществами по сравнению с Простасцинтом, поскольку они могут связываться с

внеклеточным эпитопом 5T4, характеризуются оптимизированной фармакокинетикой для визуализации и являются гуманизированными.

[0430] Белок 5T4 также известен как трофобластный гликопротеин, или TPBG. Примеры белков 5T4 известны в данной области техники и включают, например, белок 5T4 согласно SEQ ID NO: 133.

[0431] Терапевтические антитела и слитые белки антител против мишени 5T4 человека находились в разработке, включая антитело мыши «H8». Также на сегодняшний день компания Oxford Biomedica проводит клиническую разработку противораковой вакцины под названием Trovax против антигена 5T4.

[0432] 5T4-специфичное визуализирующее средство может обеспечить значительное преимущество с точки зрения специфичности по сравнению с другими визуализирующими средствами, такими как ФДГ, в основе работы которых лежит обнаружение изменений метаболизма. Более того, визуализирующие средства, которые специфично нацелены на 5T4, могут представлять собой ценный инструмент при разработке вариантов терапии, нацеленных на 5T4. Например, визуализирующее средство можно применять для мониторинга пациентов после лечения терапией, нацеленной на 5T4. В случае рака предстательной железы на рынке представлено одобренное FDA средство для визуализации методом ОЭКТ, названное Простасцинт, однако данное средство характеризуется значительными ограничениями, поскольку является интактным антителом мыши (проблема с иммуногенностью при повторном введении), а эпитоп является внутренним эпитопом биомаркера ПСМА (что ограничивает точность). Антигенсвязывающие конструкции против 5T4 согласно настоящему изобретению могут обладать значительными преимуществами по сравнению с Простасцинтом, поскольку они могут связываться с внеклеточным эпитопом 5T4, характеризуются оптимизированной фармакокинетикой для визуализации и являются гуманизированными.

[0433] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном 5T4, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или другие фрагменты антител, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против 5T4 представлены на ФИГ. 28B-28E, 32, 36C, 54 (SEQ ID NO: 119 и 120), 55 (SEQ ID NO: 120), 56 (SEQ ID NO: 121), 57 (SEQ ID NO: 122), 58 (SEQ ID NO: 123), 59 (SEQ ID NO: 124), 67, 68.

[0434] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно присоединить к терапевтическому средству для лечения формы рака, включая, без ограничения: рак толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и/или предстательной железы.

[0435] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию против 5T4 можно применять в качестве терапевтического средства в качестве самостоятельной конструкции (например, без токсина, конъюгированного с ней). Несмотря на то, что фрагменты характеризуются более коротким периодом полужизни по сравнению с интактным антителом, которое будет менее оптимальным для терапии, данные форматы могут демонстрировать улучшенное проникновение в опухоль благодаря их меньшему размеру и могут являться терапевтически эффективными при соответствующем оснащении цитотоксическим лекарственным средством или радиоактивным изотопом.

[0436] 5T4 представляет собой быстро интернализирующийся антиген, что может сделать его подходящим для подходов на основе конъюгата антитела с лекарственным

средством. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения другой терапевтический подход представляет собой радиоиммунотерапию посредством присоединения соответствующей радиоактивной метки, такой как бета-излучатель Иттрий-90, которая может обеспечивать повреждение и гибель клетки в локальной раковой ткани.

[0437] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию применяют для нацеливания на клетки, экспрессирующие антиген 5T4, включая, например, клетки рака толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и/или предстательной железы.

[0438] Способность визуализации всего тела пациента для обнаружения присутствия мишени антитела до и в течение лечения обеспечивает ценную информацию для персонализированного ведения пациента. В течение исследования безопасности и эффективности терапии антителом полезно иметь возможность выбрать и исследовать лечение на пациентах, у которых экспрессируется мишень антитела как часть прогрессирования их заболевания.

[0439] 5T4 сверхэкспрессируется во многих различных карциномах, включая карциному толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и предстательной железы. Визуализирующие средства, такие как ФДГ-ПЭТ (ПЭТ с применением фтордезоксиглюкозы), показали себя вполне эффективными для обнаружения многих из данных типов рака, но применяемые на сегодняшний день подходы визуализации являются не достаточно точными в случае рака яичников и предстательной железы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любое из данных нарушений можно диагностировать и/или лечить различными конструкциями против 5T4, описанными в настоящем документе.

[0440] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции могут представлять собой клинические визуализирующие средства (ПЭТ/ОЭКТ) у людей. Поскольку 5T4 сверхэкспрессируется во многих типах рака (включая рак толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и предстательной железы), данные антигенсвязывающие конструкции против 5T4 можно применять для прицельного диагностического обнаружения данных типов рака. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные конструкции можно применять для обнаружения рака яичников и/или предстательной железы.

[0441] Термин «5T4-зависимое нарушение» включает любое нарушение, при котором 5T4 играет роль в нарушении сам по себе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения это означает сверхэкспрессию 5T4. Примеры нарушений включают множество типов рака, таких как, например, рак толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и предстательной железы.

[0442] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено миниантитело, которое связывается с 5T4. Миниантитело содержит полипептид, содержащий одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с 5T4, причем scFv содержит вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L); и вариант шарнирной области, содержащий по меньшей мере три цистеина на каждой цепи шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым вариантам

реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы.

[0443] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело согласно настоящему документу содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 87; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 88; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 89; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 90; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 91; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 92. Согласно некоторым вариантам реализации миниантитела, описанного в настоящем документе, вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L) представляют собой последовательности человека.

[0444] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, продуцирующая любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен набор, содержащий любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, и поддающийся обнаружению маркер.

[0445] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ обнаружения присутствия или отсутствия 5T4. Указанный способ включает применение любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, в отношении образца; и обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции с 5T4. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы. Согласно некоторым вариантам реализации способа применение миниантитела включает введение миниантитела субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации способа обнаружение связывания или отсутствия связывания миниантитела с антигеном-мишенью включает позитронно-эмиссионную томографию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ также включает применение вторичного антитела или его фрагмента в отношении образца, причем вторичное антитело или его фрагмент специфично связывается с миниантителом. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело инкубируют с образцом в течение не более 1 часа.

[0446] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания терапевтического средства на 5T4. Способ включает введение субъекту любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, причем миниантитело конъюгировано с терапевтическим средством.

[0447] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания на 5T4 у субъекта, который нуждается в таком нацеливании. Способ включает введение субъекту миниантитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации способа субъект страдает от по меньшей мере одного из

следующих состояний: раковой опухоли или рака толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких или предстательной железы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект страдает от по меньшей мере одного из первичного рака или метастатического рака. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект страдает от ранней стадии нарушения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект страдает от средней стадии нарушения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект страдает от поздней стадии нарушения.

[0448] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с 5T4. Антитело содержит шарнирную область, причем шарнирная область содержит по меньшей мере одну последовательность из следующих: a) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи, где X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту; b) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой идентичной аминокислотой, где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 208); c) центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ IDNO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к последовательности верхнего шарнира согласно ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48); или d) верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой, и центральную шарнирную область, присоединенную к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой полноразмерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой миниантитело. Согласно некоторым вариантам реализации антитела помимо шарнирной области антитело содержит гуманизированную аминокислотную последовательность.

[0449] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в SEQ ID NO: 87; HCDR2 согласно HCDR2 в SEQ ID NO: 88; HCDR3 согласно HCDR3 в SEQ ID NO: 89; LCDR1 согласно LCDR1 в SEQ ID NO: 90; LCDR2 согласно LCDR2 в SEQ ID NO: 91; и LCDR3 согласно LCDR3 в SEQ ID NO: 92.

[0450] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая шарнирную область любых из вариантов

реализации антитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации нуклеиновой кислоты помимо последовательности, кодирующей шарнирную область, нуклеиновая кислота содержит последовательность человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, экспрессирующих антитело, кодируемое нуклеиновой кислотой.

[0451] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ получения антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Способ включает экспрессию антитела в линии клеток.

[0452] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения состояния у субъекта, который нуждается в таком лечении, причем способ включает введение субъекту антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе.

CD3-IAB25M

[0453] CD3 (кластер дифференциации 3) был обнаружен одновременно с моноклональным антителом OKT3. Изначально было обнаружено, что OKT3 связывается со всеми зрелыми периферическими Т-клетками, а позже было определено, что эпсилон-субъединица CD3 как часть комплекса TCR-CD3 является антигеном поверхности клетки, с которым связывается OKT3. (Kung, P. et al., "Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens," Science, Vol. 206, No. 4416, pp. 347-349, 1979). Примеры субъединиц CD3 представлены SEQ ID NO: 136-139. Затем проводили исследование OKT3 в качестве иммуносупрессанта отторжения трансплантата, причем в начальном исследовании изучали острое отторжение трансплантата почки (Cosimi, A. B. et al., "Treatment of acute renal allograft rejection with OKT3 monoclonal antibody," Transplantation, Vol. 32, No. 6, pp. 535-539, 1981).

[0454] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены антигенсвязывающие конструкции, включая антитела и их фрагменты, такие как миниантитела, которые связываются с молекулой-мишенью, CD3. Такие антигенсвязывающие конструкции могут быть подходящими для обнаружения присутствия, локализации и/или количеств молекулы-мишени (CD3 и/или CD3 + клеток). Такие антигенсвязывающие конструкции могут также быть подходящими для модулирования биологической активности, связанной с экспрессией CD3 на иммунных клетках, и для нацеливания терапевтических средств на клетки, которые экспрессируют белок CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия молекулы-мишени (или «мишени») с применением антигенсвязывающих конструкций (включая антитела и конструкции, такие как миниантитела). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы применения антигенсвязывающих конструкций для терапевтических целей.

[0455] Некоторые варианты реализации миниантител против CD3, раскрытых в настоящем документе, можно также применять в качестве терапевтического миниантитела, например, для модулирования реакции иммунной системы с помощью нейтрализации Т-клеток посредством эпсилон-домена CD3 комплекса TCR и с помощью повышающей регуляции Т-регуляторных клеток посредством повышающей регуляции FOXP3 (Saruta, M. et al., "Characterization of FOXP3 + CD4 + regulatory T cells in Crohn's disease," Clin. Immunol., Vol. 125, No. 3, pp. 281-290, 2007). Такие терапевтические средства находят применение при лечении не только аллотрансплантатов ткани/органа, но также аутоиммунных заболеваний, таких как, среди прочих, ревматоидный артрит,

множественный склероз, диабет 1 типа и красная волчанка.

[0456] Начальный экспериментальный вариант доклинической визуализации был осуществлен с применением гуманизированного антитела против CD3, визилизумаба, которое не было получено из OKT3 (Malviya, G. et al., "Radiolabeled humanized anti-CD3 monoclonal antibody Visilizumab for imaging human T-lymphocytes," Vol. 50, No. 10, pp. 1683-1691, 2009). Визуализация CD3 + Т-клеток является подходящей для терапии против CD3, поскольку лечение является эффективным, если орган, представляющий интерес, был полностью инфильтрован CD3 + Т-клетками. Потенциальное средство, визуализирующее CD3, будет обеспечивать выбор пациента, а также способ мониторинга лечения. При визуализации с помощью полноразмерного антитела, как правило, для оптимальной визуализации требуется более длительное время после инъекции, чем при визуализации с помощью фрагментов, описанных в настоящем документе.

[0457] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены антигенсвязывающие конструкции против CD3, такие как миниантитела. Антигенсвязывающие конструкции можно применять, например, для визуализации и для лечения множества нарушений, в которые вовлечена иммунная система.

[0458] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном CD3, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или другие фрагменты антител, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против CD3 представлены на ФИГ. 33, 36D, 69.

[0459] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно применять в качестве терапевтического средства без присоединения к другой молекуле, такой как токсин (см., например, публикацию Chatenoud, L. et al., "CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity," Nat. Rev. Immunol., Vol. 7, No. 8, pp. 622-632, 2007). Такие антигенсвязывающие конструкции могут также быть подходящими для модулирования биологической активности, связанной с экспрессией CD3 на иммунных клетках, для лечения множества заболеваний, включая рак, диабет, аутоиммунные и воспалительные состояния. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию саму по себе можно применять в качестве иммунодепрессанта, и она демонстрирует активность по ингибированию передачи сигналов посредством CD3.

[0460] Антигенсвязывающие конструкции против CD3, раскрытые в настоящем документе, можно также применять в качестве терапевтической антигенсвязывающей конструкции, например, для модулирования реакции иммунной системы с помощью нейтрализации Т-клеток посредством эпсилон-домена CD3 комплекса TCR и с помощью повышающей регуляции Т-регуляторных клеток посредством повышающей регуляции FOXP3 (Saruta, M. et al., 2007). Такие терапевтические средства находят применение при лечении не только аллотрансплантатов ткани/органа, но также аутоиммунных заболеваний, таких как, среди прочих, ревматоидный артрит, множественный склероз, диабет 1 типа и красная волчанка.

[0461] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция, такая как миниантитело, может содержать один или более CDR из вариабельной области тяжелой или легкой цепи теплизумаба.

[0462] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения одну или более антигенсвязывающих конструкций, описанных в настоящем документе, можно объединить с другими средствами, нацеленными на иммунные клетки, такими

как антитела, направленные на OX40, CD134, CD40, CD154, CD80, CD86, ICOS, CD137, и/или антагонисты рецептора ИЛ-1. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело, направленное на CD3, снижает иммунный ответ, и необходимость конъюгации дополнительного терапевтического средства с антигенсвязывающей конструкцией отсутствует. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены миниантитела для лечения аутоиммунного диабета или других аутоиммунных состояний, в которые вовлечены Т-клетки, которые не конъюгированы с терапевтическим средством или не содержат терапевтического средства.

[0463] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции против CD3 можно применять в качестве терапевтической антигенсвязывающей конструкции для модулирования реакции иммунной системы посредством стимуляции и вызова толерантности Т-клеток посредством эпсилон-домена CD3 комплекса TCR и/или с помощью повышающей регуляции Т-регуляторных клеток посредством повышающей регуляции FOXP3 (Saruta, M. et al., 2007). Такие терапевтические средства находят применение при лечении не только аллотрансплантатов ткани/органа, но также аутоиммунных заболеваний, таких как, среди прочих, ревматоидный артрит, множественный склероз, диабет 1 типа и красная волчанка.

[0464] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию можно применять в качестве терапевтического средства без присоединения к другой молекуле, такой как токсин (см., например, Chatenoud, L. et al., 2007). Такие антигенсвязывающие конструкции могут также быть подходящими для модулирования биологической активности, связанной с экспрессией CD3 на иммунных клетках, для лечения множества заболеваний, включая рак, диабет, аутоиммунные и воспалительные состояния. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающую конструкцию саму по себе можно применять в качестве иммунодепрессанта, и она демонстрирует активность по ингибированию передачи сигналов посредством CD3.

[0465] Без ограничения какой-либо теорией согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичная антигенсвязывающая конструкция связывается с мишенью на мишень-положительной клетке и связывается с первым антигеном (который может быть отличным от CD3) на первой клетке, и таким образом приводит мишень-положительную клетку в непосредственную близость с первой клеткой. Например, CD3+ клетку можно привести в непосредственную близость с раковой клеткой и можно стимулировать иммунный ответ против данной раковой клетки.

[0466] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело можно конъюгировать с терапевтическим средством для лечения CD3-зависимого нарушения.

[0467] Субъект может страдать от любого количества CD3-зависимых нарушений, которые, например, могут представлять собой ревматоидный артрит, множественный склероз, диабет 1 типа или красную волчанку.

[0468] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция, описанная в настоящем документе, обеспечивает значительное снижение нежелательных побочных эффектов, включая, без ограничения, высвобождение провоспалительных цитокинов, активацию Т-клеток и/или пролиферацию клеток.

[0469] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения, посредством которого субъект может получить пользу от применения CD3-направленных антигенсвязывающих конструкций, но вместо полноразмерной конструкции вводят миниантитело, что приводит к меньшей стимуляции активации иммунных клеток после связывания антигенсвязывающей конструкции с CD3 in vivo.

[0470] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения количество миниантитела в фармацевтической композиции является большим, чем количество, которое можно в противном случае ввести в случае полноразмерной конструкции (например, полноразмерного OKT3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения введенное количество вызовет цитокиновый шторм у субъекта, если количество было введено в форме полноразмерной конструкции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения количество, которое можно вводить, не вызывая цитокинового шторма или синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ), составляет по меньшей мере 10 микрограмм/м^2, например, по меньшей мере 10, 17, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, либо можно вводить по меньшей мере 1000 микрограмм/м^2 формата миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данное количество не приведет к синдрому высвобождения цитокинов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данное количество не приведет к синдрому высвобождения цитокинов 1 степени и/или 2 степени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данное количество не приведет к одному или нескольким из следующих симптомов: сыпь, головная боль, тошнота, рвота и/или дрожь/озноб/лихорадка. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данные симптомы, которые в норме возникнут в день 1 или день 5, или 6 введения доз, если применяют полноразмерное антитело, не будут возникать при применении миниантитела.

[0471] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения индивидуума, который нуждается в блокирующей терапии CD3, причем индивидуум также подвержен риску развития и/или испытывает цитокиновый шторм. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ включает введение субъекту, подверженному риску возникновения цитокинового шторма, конструкции миниантитела полноразмерного антитела; однако формат миниантитела обеспечит снижение интенсивности какой-либо активации иммунных клеток, которая возникла бы в противном случае, если бы субъекту ввели полноразмерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело может содержать те же CDR (или аналогичные CDR) и/или те же вариабельные области тяжелой и легкой цепей (или аналогичные вариабельные области тяжелой и легкой цепей). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения введение миниантитела обеспечивает меньший уровень стимуляции активации иммунных клеток после связывания с CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения введение миниантитела обеспечивает снижение уровня высвобождения цитокинов после связывания с CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения введение миниантитела обеспечивает меньшие количества активации, возникающей после связывания с CD3, чем при применении полноразмерной конструкции.

[0472] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапию CD3 можно вводить без введения противодействующей терапии, где

противодействующая терапия будет разработана для снижения или блокировки цитокинового шторма. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения данный подход включает введение субъекту антигенсвязывающей конструкции миниантитела вместо полноразмерной конструкции.

[0473] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения интенсивности и/или вероятности цитокинового шторма, причем указанный способ может включать идентификацию субъекта, который должен получать антигенсвязывающую конструкцию, которая должна связаться с CD3, и введение субъекту эффективного количества миниантитела, которое связывается с CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция представляет собой одну или более из таковых, описанных в настоящем документе.

[0474] Как описано в настоящем документе, способность к снижению и/или предотвращению цитокинового шторма (или другой аспект, такой как снижение активации и/или пролиферации) может в особенности относиться к антигеневязывающим конструкциям, которые связываются с CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения процесс (например, с применением формата миниантитела) для предотвращения таких проблем можно применять для других белков-мишеней, например, любого белка-мишени, для которого связывание антитела с мишенью приводит к цитокиновому шторму или активации/пролиферации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ можно применять для обеспечения предотвращения несоответствующей и/или пагубной активации у субъекта, у которого активация возникает в ответ на бивалентный антигенсвязывающий белок. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вместо антигенсвязывающего белка против CD3 можно применять антигенсвязывающий белок против CD28 (например, миниантитело), который связывается с CD28).

[0475] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения применение миниантитела против CD3 обеспечивает субъекту получение надлежащих уровней антигенсвязывающей конструкции для обеспечения лечения CD3-зависимого нарушения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект может получать CD3-связывающие молекулы без дополнительной и/или последующей необходимости получать инъекции инсулина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения применение конструкции миниантитела против CD3 обеспечивает ослабление запускаемого CD3 ответа без разрушения слишком большого количества B-клеток в процессе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активация/пролиферация, которая уменьшена, включает активацию и/или пролиферацию Т-клеток и/или клеток-природных киллеров (Natural Killer, NK).

[0476] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения введелие антигенсвязывающей конструкции субъекту, который нуждается, включает введение эффективного количества антигенсвязывающей конструкции против CD3, причем указанная антигенсвязывающая конструкция связывается с CD3, но не приводит к значительному повышению уровня по меньшей мере одного последствия из: высвобождения цитокинов, активации или пролиферации.

[0477] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ введения терапевтического средства, которое связывается с CD3 на иммунной клетке. Способ включает введение антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем изобретении (например, любого из миниантител против CD3), субъекту, который нуждается в снижении количества CD3. Антигенсвязывающая

конструкция связывается с CD3; однако, как подтверждают данные, представленные в настоящем изобретении, антигенсвязывающая конструкция не приводит к значительному повышению уровня по меньшей мере одного последствия из: высвобождения цитокинов, активации или пролиферации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения снижение уровня CD3 означает снижение количества свободного доступного белка CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения снижение уровня CD3 означает снижение уровня клеток, экспрессирующих белок CD3.

[0478] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкция не приводит к цитокиновому шторму на уровне, который будет неприемлемо пагубным для субъекта.

[0479] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения субъекта, страдающего от CD3-зависимого нарушения. Способ включает введение субъекту эффективного количества антигенсвязывающей конструкции. Антигенсвязывающая конструкция представляет собой миниантитело, которое связывается с CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция конъюгирована с терапевтическим средством. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающая конструкция содержит бивалентную структуру, содержащую первый участок связывания и второй участок связывания, причем первый участок связывания связывается с CD3, и причем второй участок связывания связывается с CD3. Эффективное количество представляет собой молярное количество, которое, если бы антигенсвязывающая конструкция была введена в другом формате - в частности, в формате полного антитела (например, OKT3), молярное количество вызвало бы цитокиновый шторм, интенсивность которого привела бы к неприемлемости применения указанного формата для терапевтических целей. Однако когда антигенсвязывающая конструкция представляет собой миниантитело, такое же молярное количество все еще является эффективным для терапии на основе CD3, но не вызывает цитокинового шторма на неприемлемых уровнях.

[0480] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, поскольку конструкции согласно настоящему изобретению можно применять для вариантов терапии, даже если данные конструкции являются бивалентными и связываются с CD3, можно применять терапевтические конструкции антигенсвязывающих конструкций против CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена антигенсвязывающая конструкция, которая связывается с CD3 in vivo, но не приводит к значительному уровню по меньшей мере одного последствия из: высвобождения цитокинов, активации или пролиферации.

[0481] Термин «CD3-зависимое нарушение» включает ревматоидный артрит, множественный склероз, диабет 1 типа, красную волчанку, воспалительное заболевание кишечника, диабет, отторжение трансплантата органа, аутоиммунные заболевания, аллергии и другие нарушения, при которых роль в патологии играют Т-клетки и/или природные киллеры (NK).

[0482] «Цитокиновый шторм», также известный как «цитокиновый каскад» или «гиперцитокинемия», представляет собой потенциально смертельную иммунную реакцию, которая включает в себя петлю положительной обратной связи между цитокинами и иммунными клетками, с в высокой степени повышенными уровнями различных цитокинов. Симптомы цитокинового шторма представляют собой высокую лихорадку, отек и покраснение, чрезмерную усталость и тошноту. В некоторых случаях

иммунная реакция может быть смертельной. Как правило, некоторый уровень высвобождения цитокинов является приемлемым и необходимым, например, при борьбе с инфекцией. Когда субъект испытывает лихорадку и озноб, связанные с простудой, такие симптомы являются результатом борьбы иммунной системы с вирусом, и вследствие этого такие уровни являются приемлемыми и не являются «цитокиновым штормом». Однако когда плечо активации сверхстимулировано и не сбалансировано ингибиторными сигналами, данные цитокины могут привести к повреждению органа и ткани и, в конечном итоге, к смерти. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения конструкции, описанные в настоящем документе, могут быть подходящими для предотвращения и/или минимизации синдрома высвобождения цитокинов и, таким образом, данные конструкции можно применять в ситуациях, в которых в противном случае можно применять полноразмерные антитела против Т-клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения любые из способов, описанных в настоящем документе, направленных на цитокиновые штормы, можно также применять в отношении синдрома высвобождения цитокинов.

[0483] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект страдает от воспалительного и/или аутоиммунного состояния. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения состояние выбирают из по меньшей мере одного состояния из ревматоидного артрита, множественного склероза, диабета 1 типа или красной волчанки.

[0484] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения цитокины являются таковыми, которые вовлечены в цитокиновые штормы, вызванные введением полноразмерного антитела OKT3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения цитокины включают по меньшей мере один из ИФНγ, ИЛ-2, ФНО-α или ИЛ-17.

[0485] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено миниантитело, которое связывается с CD3. Миниантитело содержит полипептид, содержащий одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с CD3, причем scFv содержит вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L); и вариант шарнирной области, содержащий по меньшей мере три цистеина на каждой цепи шарнира. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит последовательность C_H3 IgG человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело дополнительно содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы.

[0486] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, продуцирующая любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен набор, содержащий любой из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, и поддающийся обнаружению маркер.

[0487] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

предложен способ обнаружения присутствия или отсутствия CD3. Способ включает: применение любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, в отношении образца; и обнаружение связывания или отсутствия связывания антигенсвязывающей конструкции с CD3. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело содержит поддающийся обнаружению маркер, который выбран из группы, состоящей из радиоактивного вещества, красителя, контрастного вещества, флуоресцентного соединения, биолюминесцентного соединения, фермента, усиливающего средства и наночастицы. Согласно некоторым вариантам реализации способа применение миниантитела включает введение миниантитела субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации способа обнаружение связывания или отсутствия связывания миниантитела с антигеном-мишенью включает позитронно-эмиссионную томографию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способ также включает применение вторичного антитела или его фрагмента в отношении образца, причем вторичное антитело или его фрагмент специфично связывается с миниантителом. Согласно некоторым вариантам реализации способа миниантитело инкубируют с образцом в течение не более 1 часа.

[0488] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания терапевтического средства на CD3. Способ включает введение субъекту любого из вариантов реализации миниантитела, описанных в настоящем документе, причем миниантитело конъюгировано с терапевтическим средством.

[0489] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания на клетку Т-лимфоцит, экспрессирующую CD3, у субъекта, который нуждается в таком нацеливании. Способ включает введение субъекту миниантитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нейтрализации клетки Т-лимфоцита, экспрессирующей CD3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект содержит по меньшей мере одну из следующих клеток: CD3 Т-клетки с подавленным иммунитетом, CD3 Т-клетки с нарушенной функцией, аутореактивные CD3 Т-клетки, сверхреактивные CD3 Т-клетки, ингибиторные CD3 Т-клетки, CD3 Т-клетки с нарушенной локализацией или CD3 Т-клеточную лимфому. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект содержит CD3 Т-клетки, связанные по меньшей мере с одним заболеванием из ревматоидного артрита, множественного склероза, диабета, системной красной волчанки, аутоиммунного, воспалительного состояния, дефекта передачи сигналов или костимуляторного дефекта.

[0490] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с CD3. Антитело содержит шарнирную область, причем шарнирная область содержит по меньшей мере одну последовательность из следующих: a) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 ($X_{n1}CX_{n2}X_{n3}CX_{n4}X_{n5}C$), где X_{n1} может представлять собой любую аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи, где X_{n2} представляет собой одну аминокислоту из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту; b) пептидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2 ($X_{n1}X_{n2}X_{n3}X_{n4}X_{n5}X_{n6}CX_{n7}X_{n8}CX_{n9}X_{n10}C$), где X_{n1} может представлять собой любую

аминокислоту, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой идентичной аминокислотой, где X_{n2} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n3} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n4} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n5} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n6} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n7} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n8} может представлять собой любую аминокислоту, где X_{n9} может представлять собой любую аминокислоту, и где X_{n10} может представлять собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 208); c) центральную шарнирную последовательность, имеющую по меньшей мере одной последовательность из: CVECPPCP (SEQ ID NO: 57), CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к верхней шарнирной последовательность согласно ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48); или d) верхнюю шарнирную область, которая не содержит аминокислот, способных к перекрестному сшиванию с соответствующей аминокислотой, и центральную шарнирную область, присоединенную к С-концу верхней шарнирной области, причем центральная шарнирная область содержит по меньшей мере три цистеина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой полноразмерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело представляет собой миниантитело. Согласно некоторым вариантам реализации антитела помимо шарнирной области антитело содержит гуманизированную аминокислотную последовательность.

[0491] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1 в таблице 3, SEQ ID NO: 174; HCDR2 согласно HCDR2 в таблице 3, SEQ ID NO: 175; HCDR3 согласно HCDR3 в таблице 3, SEQ ID NO: 176; LCDR1 согласно LCDR1 в таблице 3, SEQ ID NO: 177; LCDR2 согласно LCDR2 в таблице 3, SEQ ID NO: 97; и LCDR3 согласно LCDR3 в таблице 3, SEQ ID NO: 178, для CD3.

[0492] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1 на ФИГ. 65B или 65C; HCDR2 согласно HCDR2 на ФИГ. 65B или 65C; HCDR3 согласно HCDR3 на ФИГ. 65B или 65C; LCDR1 согласно LCDR1 на ФИГ. 65B или 65C; LCDR2 согласно LCDR2 на ФИГ. 65B или 65C; и LCDR3 согласно LCDR3 на ФИГ. 65B или 65C.

[0493] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антигенсвязывающие конструкции, которые связываются с антигеном CD3, могут представлять собой антитела, миниантитела и/или другие фрагменты антител, такие как scFv. Некоторые неограничивающие варианты реализации антигенсвязывающих конструкций против CD3 представлены на ФИГ. 65B и 65C.

[0494] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения миниантитело содержит: HCDR1 согласно HCDR1 на ФИГ. 65B или 65C; HCDR2 согласно HCDR2 на ФИГ. 65B или 65C; HCDR3 согласно HCDR3 на ФИГ. 65B или 65C; LCDR1 согласно LCDR1 на ФИГ. 65B или 65C; LCDR2 согласно LCDR2 на ФИГ. 65B или 65C; и LCDR3 согласно LCDR3 на ФИГ. 65B или 65C. Согласно некоторым вариантам реализации миниантитела, описанного в настоящем документе, вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L) представляют собой последовательности человека.

[0495] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая шарнирную область любого из вариантов реализации антитела, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации нуклеиновой кислоты помимо последовательности,

кодирующей шарнирную область, нуклеиновая кислота содержит последовательность человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложена линия клеток, экспрессирующих антитело, кодируемое нуклеиновой кислотой.

[0496] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ получения антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе. Способ включает экспрессию антитела в линии клеток.

[0497] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения состояния у субъекта, который нуждается в таком лечении, причем указанный способ включает введение субъекту антитела согласно любому из вариантов реализации, описанных в настоящем документе.

Дополнительные варианты реализации

[0498] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения scFv или миниантитело обладают превосходящими фармакокинетическими свойствами для диагностической визуализации. В применяемой на сегодняшний день технологии используют визуализацию с помощью полноразмерных антител, для которой часто требуется более длительное время (~7-8 дней после инъекции) для получения высококонтрастных изображений в связи с медленным клиренсом полноразмерных антител в сыворотке. Миниантитело обеспечивает возможность визуализации в тот же день или на следующий день. Каждый день является жизненно важным для пациентов с агрессивно прогрессирующим заболеванием, и возможность идентифицировать надлежащий терапевтический подход в более раннюю временную точку способна улучшить выживаемость пациента. Визуализация в тот же день или на следующий день также обеспечивает решение логистической проблемы, с которой сталкивается множество пациентов, которые преодолевают большие расстояния для получения лечения/диагностики, поскольку длительное пребывание в поездке или необходимость вернуться через неделю будет отсутствовать при визуализации с применением миниантител по сравнению с полноразмерными антителами. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения воздействие более низких доз облучения обеспечивает визуализацию, проводимую несколько раз, и отслеживание прогрессирования заболевания в течение времени.

[0499] Помимо этого согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения компоненты-мономеры миниантитела содержат в шарнире остатки цистеина, которые образуют дисульфидные связи. Данные ковалентно связанные остатки цистеина можно открыть посредством мягкого химического восстановления для обеспечения активных тиольных групп для цистеин-специфичной конъюгации при сохранении целостности димерной молекулы миниантитела. Применяемые на сегодняшний день способы химической конъюгации включают следующие сайт-специфичные платформы: введение цистеина в F(ab)'2-область антитела, например, Thio-Mabs (Roche); цистеин в положении 239 в Fc (DISH-Mab, Seattle Genetics), неприродные аминокислоты, такие как кето-фенилаланин (Ambrx) для образования алкоксиаминового линкера, фенилаланиназидометан (Sutro) для клик-циклоприсоединения, глутамин в Fc-области для трансглутаминаза-зависимой конъюгации (Rinat-Pfizer). Цистеины шарнира в MAT обеспечивают химическую основу для сайт-неспецифичной тиольной конъюгации. Конъюгация с лизинами также является сайт-неспецифичной или случайной и приводит к наивысшей степени гетерогенности. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно ввести

сайт-специфичный цистеин в scFv, каркасный участок или другую часть антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем изобретении.

[0500] Способность визуализации всего тела пациента для определения присутствия мишени антитела до и в течение лечения обеспечивает ценную информацию для персонализированного ведения пациента. В течение исследования безопасности и эффективности терапии антителом полезно иметь возможность выбрать и исследовать лечение на пациентах, у которых экспрессируется мишень антитела как часть прогрессирования их заболевания.

[0501] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения scFv или диагностические фрагменты миниантитела, соответствующие доступным вариантам терапии антителом, обеспечивают соответствие состояния заболевания пациента подходящей терапии антителом.

[0502] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ нацеливания первого антигена на клетку, положительную в отношении молекулы-мишени. Способ может включать применение биспецифичной антигенсвязывающей конструкции в отношении образца. Биспецифичная антигенсвязывающая конструкция может содержать антигенсвязывающую конструкцию, описанную в настоящем документе. Биспецифичное антитело или его фрагмент может содержать антигенсвязывающую конструкцию, которая связывается с первым антигеном, например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR, scFv или мономер миниантитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичное антитело содержит 1, 2 или 3 HCDR антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе, и/или 1, 2 или 3 LCDR антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичная антигенсвязывающая конструкция содержит scFv антигенсвязывающей конструкции, описанной в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичная антигенсвязывающая конструкция содержит последовательность V_H или V_L, описанную в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичная антигенсвязывающая конструкция содержит мономер миниантитела, описанного в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичную антигенсвязывающую конструкцию применяют в отношении образца in vivo, например, органа или ткани субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичную антигенсвязывающую конструкцию применяют в отношении образца in vitro. Без ограничения какой-либо теорией согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичная антигенсвязывающая конструкция связывается с мишенью на мишень-положительной клетке и связывается с первым антигеном (который может быть отличным от первой молекулы-мишени) на первой клетке, и таким образом приводит мишень-положительную клетку в непосредственную близость с первой клеткой. Например, первую клетку, положительную в отношении молекулы-мишени, можно привести в непосредственную близость с раковой клеткой, и она может стимулировать иммунный ответ против данной раковой клетки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичная антигенсвязывающая конструкция содержит фрагмент первой молекулы-мишени и второй молекулы-мишени, которые могут привести цитотоксичную Т-клетку в непосредственную близость с активированной иммунной клеткой, экспрессирующей первую молекулу-мишень, или с опухолевой клеткой, экспрессирующей первую молекулу-мишень, чтобы привести к

уничтожению клетки-мишени. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения можно нацеливаться на любые иммунные клетки (NK или B-клетку, или дендритную клетку) и соединить их с антиген-экспрессирующей клеткой, как определено специфичностью второго scFv.

[0503] Конструкции миниантитела содержат антигенсвязывающие scFv с варьирующими длинами линкера, которые могут находиться в V_L-V_H или V_H-V_L ориентации. scFv могут быть присоединены к любой из 12 последовательностей шарнира, описанных в таблице 1. scFv и соответствующие шарниры могут быть связаны с доменами C_H3 из антител IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый цистеин шарнира, который обычно образует пару с легкой цепью в нативных антителах IgG1, IgG2 и IgG3, должен быть мутирован на серии или аланин или другую соответствующую аминокислоту для предотвращения перестановок дисульфидов и/или конкатемеризации. Для снижения присутствия или снижения образования полумолекул и усиления стабильности in vivo шарнирная область должна содержать по меньшей мере три цистеина для образования по меньшей мере трех дисульфидных связей с другим мономером. Три цистеина на цепь в шарнире, расположенные на соответствующих расстояниях друг от друга, являются подходящими для обеспечения надлежащего образования дисульфидных связей (таблица 7). Три дисульфидные связи в шарнире в миниантителе, расположенные на соответствующих расстояниях друг от друга, являются подходящими для стабильности белка in vivo и клиренса через печень вместо почечного клиренса. По меньшей мере три дисульфида (или более) в шарнире являются благоприятными для сайт-специфичной конъюгации лекарственных средств, хелаторов или флуоресцентных красителей. МА, сконструированные, как описано выше, сохраняли аналогичную аффинность родительских антител. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, включающим конструкцию IgG1, первый цистеин можно оставить интактным, и его не считают слишком пагубным.

[0504] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения шарнир миниантитела или биспецифичного миниантитела, содержащий верхний шарнир, центральный шарнир и нижний шарнир, можно получить посредством объединения последовательностей любого верхнего шарнира, любого центрального шарнира и любого нижнего шарнира, представленных в таблице 7.

[0505] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый остаток цистеина в шарнире можно заменить любой аминокислотой. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения один остаток цистеина в верхнем шарнире можно заменить любой аминокислотой. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения один остаток цистеина в центральном шарнире можно заменить любой аминокислотой. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения два остатка цистеина в центральном шарнире можно заменить любой аминокислотой. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения один остаток цистеина в верхнем шарнире и один остаток цистеина в центральном шарнире можно заменить любой аминокислотой. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения один цистеин в верхнем шарнире и два остатка цистеина в центральном шарнире можно заменить любой аминокислотой.

[0506] Последовательности конструкций для примеров обсуждаются в разделе примеров ниже как соответствующие, а также представлены в таблице 2.

ПРИМЕР 1 - СТРУКТУРА МИНИАНТИТЕЛА

[0507] Миниантитело представляет собой бивалентный ковалентно связанный гомодимер молекулярной массой ~80 кДа. Каждый мономер (полумолекула) состоит из вариабельного домена тяжелой цепи (V_H), присоединенного к соответствующему вариабельному домену легкой цепи (V_L) посредством линкерной последовательности, обогащенной Gly-Ser, размером приблизительно 15-18 аминокислот. Каждый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) присоединен к домену C_H3 IgG человека последовательностью шарнира.

[0508] Последовательности, содержащие дисульфидные связи шарнира, являются важными и были разработаны для предотвращения нежелательных перестановок дисульфидов с остатками цистеина, присутствующими в других областях белка, а также содержат достаточные количества пар цистеинов для поддержания целостности димера in vivo, а также в качестве возможного участка для сайт-специфичной конъюгации.

[0509] На сегодняшний день большинство миниантител было сконструировано с применением нативных верхней и центральной шарнирных областей IgG1 человека с удлиняющей последовательностью, присоединенной к домену C_H3 IgG1 человека, как показано на ФИГ. 1. Как показано в следующих примерах, варианты scFv с обеими ориентациями - V_L-V_H (M1) и V_H-V_L (M2) - часто оценивали в отношении различных молекул-мишеней.

Конструирование на основе IgG1 человека

[0510] В предшествующих шарнирах (например, EH1 γ1) первый цистеин в шарнире (ФИГ. 2 сверху) создавал проблемы, которые приводили к гетерогенности белка, как продемонстрировано результатами анализа интактной массы с применением ЖХ/МС. Несмотря на очевидную важность цистеинов в шарнирной области, было принято решение мутировать данный цистеин на серии с получением шарнира EH2 γ1 (ФИГ. 2 снизу). Однако было определено, что данная конструкция шарнира не обеспечивает определенных требуемых аспектов, поскольку оказалось, что двух дисульфидных связей, которые образовались между двумя оставшимися остатками цистеина в центральном шарнире (ФИГ. 2 снизу), было недостаточно для поддержания стабильности димера in vivo.

MA IgG2 для преодоления проблем с последовательностью шарнира IgG1

[0511] Для решения новых аспектов, представленных выше, дополнительно конструировали миниантитела. Сконструированные миниантитела на основе huIgG2 с удлиняющей последовательностью обеспечивали третий цистеин в центральном шарнире (дополнительный цистеин в нативном центральном шарнире IgG1) для увеличения уровня образования дисульфидных связей и увеличения стабильности белка. Миниантитела на основе huIgG2, IAB2M и IAB22M конструировали с применением последовательности шарнира IgG2 человека (huIgG2), присоединенной к домену IgG2 huCH3.

[0512] При объединении последовательностей верхнего и центрального шарнира нативного IgG2 с удлиняющей последовательностью в качестве нижнего шарнира (EH1 γ2) наблюдалось увеличение агрегации. Реактивный цистеин (ФИГ. 3 сверху; первый цистеин шарнира) отвечал за образование конкатемеров в формате IAB2M-EH1 γ2 с нативным шарниром huIgG2 (ФИГ. 3 сверху), что наблюдали в результате анализа методом ДСН-ПААГ, как представлено на ФИГ. 5A.

[0513] Таким образом, аналогично тому, что было сделано в отношении шарнира IgG1 (EH1 γ1), первый цистеин в шарнире (который образует пару с легкой цепью) мутировали на серии с получением EH2 IgG2 (EH2 γ2) (ФИГ. 3 снизу).

Антигенсвязывающие конструкции с данным шарниром (EH2 γ2) хорошо экспрессировались и характеризовались хорошей стабильностью in vivo. Все три дисульфидные связи в центральном шарнире были образованы надлежащим образом, что было подтверждено методом масс-спектрометрии. Для конструкций IAB2M и IAB22M с EH2 γ2 была продемонстрирована стабильность.

[0514] Оценивали дополнительные сконструированные миниантитела huIgG2 с первым цистеином, измененным на серии, и нативной последовательностью верхнего и нижнего шарнира (NH2 γ2); было установлено, что белки являются стабильными in vivo (ФИГ. 4 снизу).

ПРИМЕР 2 - ДАННЫЕ ДЛЯ IAB2M IN VITRO

[0515] В таблице 5 представлен обзор вариантов IAB2M (SEQ ID NO представлены на ФИГ. 5B-5E). Дополнительные варианты реализации вариантов IAB2M представлены на ФИГ. 47-53.

ТАБЛИЦА 5

Название	Мутация шарнира Cys-Ser	Удаление концевого Lys	От N- к C-концу (SEQ ID NO)
IAB2M-EH1 γ1	Нет	Нет	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 22) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 45), центральный шарнир (SEQ ID NO: 50), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB2M-EH2 γ1	Да	Да	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 24) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 46), центральный шарнир (SEQ ID NO: 50), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB2M-EH1 γ2	Да	Да	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 32) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 47), центральный шарнир (SEQ ID NO: 55), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)
IAB2M-EH2 γ2	Да	Да	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 34) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 47), центральный шарнир (SEQ ID NO: 56), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)

[0516] Анализ IAB2M с вариантами шарнира EH1 γ1, EH2 γ1 и EH1 γ2 и EH2 γ2 методом ДСН-ПААГ (ФИГ. 5A) продемонстрировал, что соотношения полумолекулы к димеру являлись в высокой степени улучшенными (уровень полумолекул можно снизить с 20-30% до менее 1%) при мутации первого цистеина шарнира в вариантах EH2. Версия EH2 γ2 характеризовалась надлежащим образованием дисульфидной связи и отсутствием конкатемеров по сравнению с EH1 γ2 (SEQ ID NO. на ФИГ. 5B-5E). В связи с присутствием дополнительного цистеина в центральном шарнире (3 вместо 2) вариант шарнира EH2 γ2 продемонстрировал улучшенную стабильность и содержал

меньше полумолекул по сравнению с вариантом шарнира EH2 γ1.

[0517] Подтверждение присутствия полумолекул проводили посредством анализа интактной массы. Образцы белка разделяли в условиях обращенной фазы с применением колонки TSKgel Phenyl-5PW (2×75 мм, Tosoh Biosciences) при температуре 60°C и анализировали на приборе Agilent ESI-QTOF, модель 6538. На ФИГ. 6A представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH1 γ1. Полные ионные хроматограммы разделенных полумолекулы и полноразмерной молекулы представлены на верхнем чертеже. Кривую при УФ280 (не показана) использовали для количественного определения процента полумолекул, присутствующих в варианте миниантитела, посредством интегрирования пиков. Деконволированные массы использовали для соотнесения и подтверждали идентичность полумолекул (средний чертеж) и полноразмерных масс (нижний чертеж). На ФИГ. 6B представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH1 γ2. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма в условиях обращенной фазы. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные молекулярные массы, которые были идентифицированы. На ФИГ. 6C представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH2 γ1. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма в условиях обращенной фазы. На среднем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие полумолекул, и на нижнем чертеже представлены полноразмерные молекулярные массы, которые были идентифицированы. На ФИГ. 6D представлен анализ интактной массы варианта IAB2M EH2 γ2. На верхнем чертеже представлена полная ионная хроматограмма. На нижнем чертеже представлены деконволированные интактные массы, подтверждающие присутствие молекул с полноразмерной массой. Полумолекулы не были обнаружены.

[0518] Анализ вариантов IAB2M методом FAC (ФИГ. 7A и 7B) продемонстрировал, что замена шарнира по сравнению с ранее использованным стандартным шарниром, EH1 γ1, не влияет на аффинность связывания с антигеном-мишенью, экспрессированным на клетках LNCap-AR (ФИГ. 5B, 5C, 5D) или клетках C4-2 XCL (ФИГ. 5B, 5C, 5E, 7C).

[0519] Образцы для дисульфидного картирования с целью понимания образования полумолекулы получали посредством денатурации белка с помощью 6 M гуанидина-HCl в Tris pH 7,5. Для этого добавляли 4-винилпиридин до концентрации 30 мМ с последующей инкубацией в течение 1 ч в темноте для кэпирования свободного цистеина. Раствор разводили для доведения концентрации гуанидина до 1 M с последующим расщеплением с применением трипсина/Lys-C. Расщепление оставляли осуществляться в течение ночи при температуре 37°C. Образцы замораживали и полностью высушивали перед разделением. Затем проводили анализ методом ЖХ/МС, в котором смесь пептидов разделяли в 0,05% водной ТФК (трифторуксусной кислоте) в градиенте 0,05% ТФК в 90% ацетонитриле с применением градиента на колонке Waters Xbridge BEH130 C18 4,6×150 мм, и массы идентифицировали с применением масс-спектрометра ESI-QTOT 6538 (Agilent) в режиме определения положительных ионов и деконволировали с применением программного обеспечения Agilent Mass Hunter. Содержащие дисульфид пептиды, идентифицированные в димере IAB2M EH1 γ1, представлены на ФИГ. 8.

[0520] Дисульфидное картирование IAB2M EH1 γ1 продемонстрировало присутствие надлежащим образом образованных, например, ожидаемых дисульфидов в шарнирной области, а также обнаружило перестановки дисульфидов. На ФИГ. 8 представлена таблица идентифицированных дисульфидов, а на ФИГ. 9 представлена иллюстрация результатов. Дисульфиды (ФИГ. 8) образовались между ожидаемыми остатками

цистеина (цистеинами SEQ ID NO: 183 и SEQ ID NO: 184; цистеинами SEQ ID NO: 183 и SEQ ID NO: 185; SEQ ID NO: 186) и между неожиданными остатками цистеина, присутствующими в других доменах белка. Было высказано предположение, что неспаренный цистеин в шарнире может вызвать перестановки дисульфидов, что препятствовало обычному образованию дисульфида (сплошные линии) (ФИГ. 9). Более того, дисульфиды V_H не наблюдались (пунктирные линии), предположительно, в связи с тем, что связанный дисульфидными связями триптический пептид не ионизировался (и вследствие этого не обнаруживался) в масс-спектрометре (ФИГ. 9).

[0521] Преобразование формата в EH1 huIgG2 (EH1 γ2) не улучшило стабильность IAB2M. На ФИГ. 10 приведено графическое представление идентифицированных дисульфидов. Значительная степень образования конкатемеров была установлена для EH1 γ2 методом ДСН-ПААГ (ФИГ. 5A). Как в случае IAB2M EH1 γ1, дисульфиды V_H не наблюдались (пунктирные линии), предположительно, в связи с тем, что связанный дисульфидными связями триптический пептид эффективно не ионизировался и вследствие этого не обнаруживался в масс-спектрометре. IAB2M EH1 γ2 (ФИГ. 5D) продемонстрировал >10% полумолекул (39469,5 Да методом ЖХ/МС) (ФИГ. 10 и ФИГ. 6B). Доминантная полумолекула (пик 1) наблюдалась на хроматограммах, как показано на чертеже (A) и (B) на ФИГ. 10. На ФИГ. 6A (верхний чертеж) представлена хроматограмма суммарного ионного тока (СИТ) IAB2M EH1 γ1, где пики 1 и 2 представляют собой полумолекулу и полноразмерную молекулу, соответственно. На ФИГ. 6A, средний чертеж представлен канал УФ280 с интегрировавнием пиков, позволяющим определить процент полумолекул, 11,1%. На ФИГ. 6A (нижний чертеж) представлены молекулярные массы, содержащие пик 2.

ПРИМЕР 3 - ДАННЫЕ ДЛЯ IAB2M IN VIVO

[0522] Проводили анализ ПЭТ/КТ и биораспределения ^{89}Zr-Df-IAB2M-EHl γ1 (ФИГ. 5B) у бестимусных мышей. Изображения ПМИ (проекции максимальной интенсивности) ПЭТ/КТ бестимусной мыши, несущей на правом плече ПСМА-положительный ксенотрансплантат 22Rv1, после введения ^{89}Zr-Df-IAB2M-γ1-EH1 в моменты времени 24 ч и 48 ч, представлены на ФИГ. 11A. Средние уровни радиоактивного поглощения в тканях от 3 мышей в момент времени 48 ч представлены в виде процента инъецированной дозы на грамм (ИД/г) (ФИГ. 11B). Уровень поглощения опухолью являлся относительно низким (6,1±1,2% ИД/г), и уровень поглощения почками являлся высоким (23,3±6,2% ИД/г); почти в 2 раза большим, чем поглощение печенью (14,1±1,6% ИД/г). Если бы миниантитело оставалось в форме димера in vivo, тогда можно было бы ожидать, что клиренс белка будет осуществляться через печень. Сигналы от почек, которые превышают сигналы от печени, свидетельствуют о нестабильности и об образовании полумолекул in vivo.

[0523] Проводили анализ ПЭТ/КТ и биораспределения ^{89}Zr-Df-IAB2M-EH2 γ1 (ФИГ. 5C) у бестимусных мышей. Изображения ПМИ ПЭТ/КТ бестимусной мыши, несущей на правом плече ПСМА-положительный ксенотрансплантат 22Rv1, после введения ^{89}Zr-Df-IAB2M-EH2 γ1 в моменты времени 24 ч и 47 ч представлены на ФИГ. 12A. Радиоактивные поглощения в тканях от 2 мышей в момент времени 47 ч представлены в виде процента инъецированной дозы на грамм (ИД/г) (ФИГ. 12B). В почках вновь наблюдалось в 2-3 раза большее радиоактивное поглощение. Как указано выше, сигналы от почек, которые превышают сигналы от печени, свидетельствуют о нестабильности и образовании полумолекул in vivo.

[0524] Проводили анализ ПЭТ/КТ и биораспределения ^{89}Zr-Df-IAB2M-EH2 γ2 (ФИГ. 5D) у бестимусных мышей. Изображения ПМИ ПЭТ/КТ бестимусной мыши, несущей на правом плече ПСМА-положительный ксенотрансплантат 22Rv1, после введения ^{89}Zr-Df-IAB2M-EH2 γ2 в моменты времени 24 ч и 47 ч представлены на ФИГ. 13A. Радиоактивные поглощения в тканях от 2 мышей в момент времени 47 ч представлены в виде процента инъецированной дозы на грамм (ИД/г) (ФИГ. 13B). Был получен низкий уровень поглощения почками наряду с соотношениями поглощения почками к поглощению печенью <1; это свидетельствует, что EH2 γ1 являлся стабильным белком.

ПРИМЕР 4 - КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЙ LAB2M IN VIVO (ТАБЛИЦА 6)

[0525] Миниантитела, полученные с последовательностями шарнира, которые были получены из шарнирной области IgG1, продемонстрировали высокий уровень клиренса через почки, который свидетельствует о нестабильности белка и диссоциации на полумолекулы in vivo (ФИГ. 11).

[0526] Мутация первого цистеина шарнира на серии в шарнирной области IgG1 (EH2 γ1) (ФИГ. 5C) для предотвращения нежелательного взаимодействия с другим неспаренным цистеином позволила получить белок с лучшим профилем in vitro (например, данные ДСН-ПААГ на ФИГ. 5). Однако высокий уровень клиренса через почки свидетельствовал о нестабильности белка и диссоциации на полумолекулы in vivo (ФИГ. 12).

[0527] Миниантитела, сконструированные с шарниром IgG2, в котором первый цистеин шарнира был мутирован на серии (EH2 γ2 (ФИГ. 5D) и другие (таблица 7, представлена краткая характеристика шарнирных областей)), выводились через печень, как прогнозировали для белков молекулярной массой ~80 кДа; это свидетельствует, что молекула оставалась интактной in vivo (ФИГ. 13A и 13B). Результаты также представлены в таблице 6.

ТАБЛИЦА 6

	Стратегия конъюгации	Модель опухоли	Линия мышей	Время	% в опухоли, ИД/г	% в почках, % ИД/г	% в печени, % ИД/г	От N- к С-концу (SEQ ID NO)
IAB2M-EH1 γ1	^{89}Zr-Df-Lys	22Rv1	Nude (бестимусные мыши)	48 ч	6,1%	23,3%	14%	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 22) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 45), центральный шарнир (SEQ ID NO: 50), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB2M-EH1 γ1	^{89}Zr-Df-Lys	22Rv1	Nude	48 ч	9,3%	26%	16,3%	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 22) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 45), центральный шарнир (SEQ ID NO: 50), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)
IAB2M-EH2 γ1	^{89}Zr-Df-Lys	22Rv1	Nude	48 ч	9,4%	23,5%	9,9%	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 24) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 46), центральный шарнир (SEQ ID NO: 50), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)

	Стратегия конъюгации	Модель опухоли	Линия мышей	Время	% в опухоли, ИД/г	% в почках, % ИД/г	% в печени, % ИД/г	От N- к С-концу (SEQ ID NO)
IAB2M-EH2 γ2	^{89}Zr-Df-Lys	22Rv1	Nude	48 ч	7,8%	3,6%	5,1%	VL (SEQ ID NO: 13); линкер (SEQ ID NO: 62); VH (SEQ ID NO: 14); полный шарнир (SEQ ID NO: 34) [верхний шарнир (SEQ ID NO: 47), центральный шарнир (SEQ ID NO: 56), нижний шарнир (SEQ ID NO: 59)]; CH3 IgG2 (SEQ ID NO: 42)

ТАБЛИЦА 7

	От N- к С-концу				
Название шарнира	**Полный шарнир**			**Домен CH3**	
	Верхний шарнир	**Центральный шарнир**	**Нижний шарнир**		
EH1 γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 22)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	Нативные верхний и центральный шарнир IgG1
	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH2 γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 24)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	C → S
	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH3 γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 26)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	C → S
	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH4 γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 28)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	C → S
	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH5 γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 30)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	C → S
	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		

EH1 γ2	Полный шарнир (SEQ ID NO: 32)			γ2 (SEQ ID NO: 42)	Нативные верхний и центральный шарнир IgG2
	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH2 γ2	Полный шарнир (SEQ ID NO: 34)			γ2 (SEQ ID NO: 42)	C → S
	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH2 γ2	Полный шарнир (SEQ ID NO: 34)			γ2 (SEQ ID NO: 181)	T26S, L28A, M57V
	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH2 γ2	Полный шарнир (SEQ ID NO: 34)			γ2 (SEQ ID NO: 182)	T26W
	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
NH1 γ2	Полный шарнир (SEQ ID NO: 31)			γ2 (SEQ ID NO: 42)	Нативный шарнир IgG2
	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)		
NH2 γ2	Полный шарнир (SEQ ID NO: 33)			γ2 (SEQ ID NO: 42)	C → S
	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)		
EH6 γ3/γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 35)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	Нативный верхний шарнир γ3
	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CVECPPCP (SEQ ID NO: 57)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH7 γ3/γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 36)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	Нативный верхний шарнир γ3
	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
EH8 γ3/γ1	Полный шарнир (SEQ ID NO: 37)			γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	Нативный верхний шарнир γ3
	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)		
NH11 NH1 γ1	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)	γ1 (SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 41)	Нативный шарнир γ1
NH13 NH1 γ3	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPRCP (EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$ (SEQ ID NO: 256)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)	γ3 (SEQ ID NO: 43)	Нативный шарнир γ3

ПРИМЕР 5 - ДАННЫЕ ДЛЯ МИНИАНТИТЕЛ IAB22M IGG2 IN VITRO

[0528] Анализ интактной массы (ФИГ. 14А) варианта IAB22M-EH1 γ2 (ФИГ. 14В) проводили методом масс-спектрометрии. IAB22M с шарниром EH1 γ2 содержал потенциальный неспаренный первый цистеин шарнира, который приводил к получению ~9,2% полумолекул (ФИГ. 20В). Для анализа интактной массы образцы IAB22M EH1 γ2 разделяли на колонке для обращенно-фазовой хроматографии (TSKgel Phenyl-5PW (Tosoh, 2×75 мм) при температуре 60°C и анализировали с помощью масс-спектрометра Agilent ESI-QTOF. На ФИГ. 14А на верхнем чертеже представлены полные ионные

хроматограммы разделенной полумолекулы и полноразмерной молекулы. Кривую при УФ280 (не показана) использовали для количественного определения процента полумолекул, присутствующих в варианте миниантитела, посредством интегрирования пиков. Деконволированные массы использовали для соотнесения и подтверждали идентичности полумолекул (средний чертеж) и полноразмерных масс (нижний чертеж).

[0529] Однако анализ интактной массы (ФИГ. 15A) варианта IAB22M1-EH2 γ2 (ФИГ. 15B) с первым цистеином в шарнире IgG2, мутированным на серии, продемонстрировал более 99% интактного димерного белка с EH2 γ2 (теоретическая MM (молекулярная масса) = 79051,2; полученная MM 79052). Для анализа интактной массы IAB22M1 EH2 γ2 образец белка анализировали методом ЖХ/МС с применением следующего оборудования: системы Waters Synapt G2 HDMS, оснащенной источником наноИЭР (ионизации наноэлектроспреем) Trizaic в сочетании с колонкой Waters nanoAcquity UPLC. Белок разделяли с применением колонки с обращенной фазой C4 nanotile (внутренний диаметр 150 мкм × 50 мм, Waters) при скорости потока 3 мкл/мин. с 0,1% муравьиной кислотой в воде и 0,1% муравьиной кислотой в ацетонитриле в качестве подвижных фаз. На ФИГ. 15A, верхний чертеж представлено сканирование в полном диапазоне, демонстрирующее единичную доминантную молекулярную массу полноразмерного миниантитела. На ФИГ. 15A, средний чертеж представлена увеличенная область димеров, например, полноразмерного белка. На ФИГ. 15A, нижний чертеж представлена увеличенная область полумолекул. Полумолекулу обнаруживали, но ее относительная распространенность была на 3 порядка ниже, чем полноразмерного белка.

ПРИМЕР 6 - ДАННЫЕ ДЛЯ MA IAB22M IGG2 IN VIVO

[0530] Сравнение MA IAB22M с последовательностями шарнира, полученными из huIgG1 и huIgG2, проводили посредством ПЭТУКТ вариантов ^{89}Zr-Df-IAB22M. Изображения ИМИ ПЭТ/КТ мышей NOD-SCID, несущих на левом плече CD8-положительные ксенотрансплантаты HPB-ALL, после введения вариантов ^{89}Zr-Df-IAB22M-γ1-EH1 (ФИГ. 16B), -NH1 γ2 (ФИГ. 16C) и -EH2 γ2 (ФИГ. 15B) представлены на ФИГ. 16A. Варианты шарнира γ2 приводили к меньшему уровню поглощения почками.

[0531] MA IAB22M, полученное на основе шарнира huIgG1 (EH1 γ1) (ФИГ. 16B), быстро выводилось через почки с получением низкого уровня нацеливания на опухоль. MA IAB22M, полученные на основе вариантов шарнира huIgG2 или удлиненного шарнира (EH2 γ2) (ФИГ. 15B), или природного шарнира (NH1 γ2) (ФИГ. 16C), продемонстрировали большую стабильность in vivo с высоким уровнем нацеливания на опухоль и меньшим почечным клиренсом (ФИГ. 16A).

[0532] ПЭТ/КТ опухолей HPB-ALL проводили для ^{89}Zr-Df-IAB22M-EH1 γ1 (ФИГ. 16B). Серийные корональные изображения одной мыши с антиген-положительной опухолью HPB-ALL в моменты времени 4, 24 и 41 ч представлены на ФИГ. 17. Радиоактивное поглощение четко наблюдалось в опухоли в моменты времени 24 и 41 ч. Некоторая фоновая активность также наблюдалась в антиген-отрицательной опухоли Дауди. В брюшной области наблюдалась высокая фоновая активность, которая свидетельствует о нежелательном клиренсе через почки.

[0533] Анализ биораспределения проводили для ^{89}Zr-Df-IAb22M-EH1 γ1 (ФИГ. 16B) в опухоли HPB-ALL (ФИГ. 18). Поглощение опухоли в HPB-ALL являлось в ~6 раз большим по сравнению с Дауди (опухоль Дауди не экспрессирует антиген-мишень). Соотношение биораспределения между опухолью HPB-ALL и кровью составило 13,5, и соотношение биораспределения между опухолью Дауди и кровью составило 3,5.

Сигнал от почек превышал сигнал от печени, что свидетельствует о более высоком уровне клиренса через почки (ФИГ. 18) и менее стабильной конструкции in vivo.

Выводы, полученные после применения начальных конструкций, которые использовали для конструирования оптимизированных миниантител

[0534] Представленные выше результаты продемонстрировали, что было важно мутировать первый цистеин шарнира для предотвращения неправильного спаривания цистеинов. Однако более 2 остатков цистеина являются благоприятными в шарнирной области для поддержания структурной целостности белка. Применение шарнира IgG2 обеспечивает решение для увеличения стабильности in vivo. Мутация концевого лизина (К) в конструкциях МА не влияет на экспрессию белка, но позволяет получить белок с более однородным зарядом.

[0535] Дополнительные варианты МА оценивали на основе IgG3 и модификации последовательностей шарнира IgG1, в которых мутировали первый цистеин шарнира, и в шарнирной области присутствовали по меньшей мере 3 остатка цистеина. В таблице 7 представлен перечень вариантов шарнира. Первый нативный цистеин в последовательности шарнира можно мутировать на серии или аланин, или любую другую аминокислоту. Нижняя шарнирная последовательность может представлять собой удлиняющую последовательность (8-25 аминокислот) или нативный нижний шарнир из γ1, γ2, γ3 или γ4. Домен C_H3 для любой конструкции может быть получен из γ1, γ2 или γ3, или γ4 и их любого встречающегося в природе аллеля. Иллюстрация некоторых вариантов шарнира представлена на ФИГ. 19. Оценивали конструкции IAB2M, IAB22M, IAB20M и IAB1M, чтобы продемонстрировать универсальность результатов.

ПРИМЕР 7 - ДАННЫЕ ДЛЯ ВАРИАНТОВ ШАРНИРА IAB2M, IAB22M, IAB20M И IAB1M IN VITRO

[0536] Анализ интактной массы проводили на вариантах шарнира (ФИГ. 5B, 5C, 7C, 5E, 5D) IAB2M (ФИГ. 20A). Анализ интактной массы также проводили на вариантах шарнира (ФИГ. 14B, 15B, 20C, 20D, 20E, 20F, 20G) IAB22M (ФИГ. 20B). Экспрессированные миниантитела со сконструированными шарнирами (EH) анализировали для определения интактной массы и количества полумолекул (ФИГ. 20A и 20B) методом ЖХ/МС с применением системы Waters Synapt G2 HDMS, оснащенной источником наноИЭР Trizaic в сочетании с колонкой Waters nanoAcquity UPLC Waters C4 nanotile (внутренний диаметр 150 мкм x длина 50 мм) при скорости потока 3 мкл/мин. с 0,1% муравьиной кислотой в воде и 0,1% муравьиной кислотой в ацетонитриле в качестве буферов. Для некоторых молекул образцы разделяли на колонке для обращенно-фазовой хроматографии (TSKgel Phenyl-5PW (Tosoh, 2×75 мм)) и анализировали с помощью масс-спектрометра Agilent ESI-QTOF.

[0537] Проводили анализ методом ДСН-ПААГ вариантов МА с шарниром IAB2M (ФИГ. 5C, 1C, 21B, 21C, 21D, 21E) и вариантов МА с шарниром IAB22M (ФИГ. 16B, 15B, 20C, 20D, 20E, 20F, 20G). Полученные в результате данные представлены на ФИГ. 21A и 22A.

[0538] Проводили анализ методом масс-спектрометрии с целью получения данных для подтверждения результатов анализа ДСН-ПААГ, представленных на ФИГ. 21A и 22A. Оценивали две конструкции IAB22M с применением масс-спектрометрии для подтверждения точной молекулярной массы, количества полумолекул и посттрансляционной модификации, например, С-концевого отсечения лизина. Конструкции белка включали миниантитела со сконструированными шарнирами EH2, EH3, полученными из последовательности IgG1 (EH2 γ1 (ФИГ. 22B) и EH3 γ1 (ФИГ.

20C)). Миниантитела γ1 с шарниром EH2 собирались надлежащим образом в интактные димерные молекулы, но добавление всего двух цистеинов приводило к получению белка с высоким количеством полумолекул. Миниантитела γ1 с шарниром EH3 надлежащим образом собирались в интактные димерные молекулы, и добавление третьего цистеина приводило к получению белка с очень низкими уровнями полумолекул.

[0539] Анализ интактной массы IAB22M-EH1 γ1 (ФИГ. 16B) методом масс-спектрометрии представлен на ФИГ. 23. Полученные молекулярные массы свидетельствовали о C-концевом отсечении. Из 3 представленных молекул (ММ 79318,9, 79450,1 и 79575,1) лишь одна соответствовала прогнозированной ММ 79576. Полученные молекулярные массы свидетельствовали о C-концевом отсечении. Из 3 представленных молекул (ММ 79318,9, 79450,1 и 79575,1) лишь одна соответствовала прогнозированной ММ 79576. Оставшаяся часть представляла собой миниантитело с 1 или обоими отсеченными C-концевыми лизинами. МА, сконструированные лишь с 2 дисульфидами в шарнире, образовывали высокие уровни полумолекул (~15%). Для анализа интактной массы IAB22M EH1 γ1 образцы разделяли на колонке для обращенно-фазовой хроматографии (TSKgel Phenyl-5PW (Tosoh, 2×75 мм)) и анализировали с применением масс-спектрометра Agilent ESI-QTOF. На ФИГ. 23 представлены полные ионные хроматограммы разделенных полумолекулы и полноразмерной молекулы (верхний чертеж). Кривую при УФ280 (не показана) использовали для количественного определения процента полумолекул, присутствующих в варианте миниантитела, посредством интегрирования пиков. Деконволированные массы использовали для соотнесения и подтверждали идентичности полумолекул (средний чертеж) и полноразмерных масс (нижний чертеж).

[0540] Анализ интактной массы варианта IAB22M-EH3 γ1 (ФИГ. 20C) методом масс-спектрометрии представлен на ФИГ. 24. Теоретическая ММ составила 79946, чему соответствовала полученная ММ 79946. Модифицированный шарнир IgG1, сконструированный с тремя дисульфидными связями в шарнире, позволил получить миниантитело с более 99% полноразмерного белка. Для анализа интактной массы образец белка в ацетатном буфере анализировали методом ЖХ/МС с применением следующего оборудования: системы Waters Synapt G2 HDMS, оснащенной источником наноИЭР Trizaic в сочетании с колонкой Waters nanoAcquity UPLC. Белок разделяли с применением колонки с обращенной фазой C4 nanotile (внутренний диаметр 150 мкм × 50 мм, Waters) при скорости потока 3 мкл/мин. с 0,1% муравьиной кислотой в воде и 0,1% муравьиной кислотой в ацетонитриле в качестве подвижных фаз. На ФИГ. 24 (верхний чертеж) представлен скан в полном диапазоне массы. На среднем чертеже представлена увеличенная область, демонстрирующая интактную молекулярную массу. На нижнем чертеже представлена увеличенная область, демонстрирующая полумолекулу.

[0541] В таблице 8 представлен перечень, в котором обобщены теоретическая предсказанная молекулярная масса (ММ) и ММ, полученная посредством анализа интактной массы пяти вариантов шарнира IAB2M (сверху; ФИГ. 5B-5E, 7C) и семи вариантов шарнира IAB22M (снизу; ФИГ. 14B, 15B, 20C, 20D; 20E, 43, 44), и соответствующее содержание полумолекул. Фактические массы белков соответствовали их теоретически рассчитанным молекулярным массам за исключением случаев, когда C-концевые остатки лизина были отсечены, что приводило к гетерогенности ММ (ФИГ. 6, 14A, 15A, 23 и 24).

ТАБЛИЦА 8

Содержание полумолекул, определенное анализом интактной массы IAB2M и IAB22M

(*отсечение С-концевого лизина вызывает гетерогенность)

Миниантитело	Конструкция	Предсказанная масса	Полученная масса	Процент полумолекул
IAB2M	IAB2M-EH1 γ1	79433,6	79176,6,* 79304, 79433,1	7,6
	IAB2M-EH1 γ2	79197,6	78938,7, 79069,7, 79195,9	11,1
	IAB2M-EH1 γ1	79145	79148	7,1
	IAB2M2-EH2 γ2	78909	78909,2	<0,5
	IAB2M2-EH3 γ1	79739,8	79741,8	<0,5
IAB22M	IAB22M-EH1 γ2	79576	79318,9, 79450,1, 79575,1	9,2
	IAB22M1-EH2 γ2	79051,5	79053	<0,5
	IAB22M1-EH3 γ1	79946,4	79947,5	<0,1
	IAB22M1-EH5 γ1	80541,2	80540	<0,1
	IAB22M1-EH6 γ3/γ1	80575,2	80576	<0,5
	IAB22M1-EH7 γ1	80312,8	80313,3	<0,5
	IAB22M1- EH8 γ1	80907,6	80907	<0,5

[0542] Анализ методом FAC проводили для вариантов шарнира IAB2M (ФИГ. 5E, 1C, 1D, 21B, 21C, 21D, 21E). Все варианты шарнира миниантитела связывались с антигеном-мишенью, экспрессированным на клетках C4-2 XCL, с аналогичной аффинностью (ФИГ. 26).

[0543] Анализ методом FAC проводили для вариантов шарнира IAB22M (ФИГ. 15B, 20C, 20D, 20E, 20F и 20G). Все миниантитела, полученные с одним и тем же scFv и доменом C_H3, но с различными шарнирами, связывались с CD8 поверхности клетки на клетке HPB-ALL с аналогичной аффинностью (ФИГ. 27).

[0544] Проводили анализ вариантов MA с шарниром IAB20M (ФИГ. 28B-28E) методом ДСН-ПААГ (ФИГ. 28A), который дополнительно подтвердил, что аспекты шарнирной области, указанные в настоящем документе, можно применять в пределах широкого диапазона молекул-мишеней (например, что данный подход справедлив для множества миниантител, направленных на различные молекулы-мишени). Дополнительные варианты реализации вариантов IAB20M представлены на ФИГ. 54-59.

[0545] Проводили анализ вариантов MA с шарниром IAB1M (ФИГ. 29B-29D) методом ДСН-ПААГ (ФИГ. 29A), который дополнительно подтвердил, что аспекты шарнирной

области, указанные в настоящем документе, можно применять в пределах широкого диапазона молекул-мишеней (например, что данный подход справедлив для множества миниантител, направленных на различные молекулы-мишени). Дополнительные варианты реализации вариантов IAB1M представлены на ФИГ. 60-65A, 65B и 65C.

ПРИМЕР 8 - ДАННЫЕ ДЛЯ ВАРИАНТОВ ШАРНИРА IAB22M IN VIVO

[0546] Проводили анализ ПЭТ/КТ меченных радиоактивным изотопом ^{89}Zr MA IAB22 с различными последовательностями шарнира (ФИГ. 15B, 20C, 20D, 20F, 20G) на мышах NOD-SCID. Изображения ПМИ ПЭТ/КТ мышей NOD-SCID, несущих на левом плече CD8-положительные ксенотрансплантаты HPB-ALL, после введения меченных ^{89}Zr вариантов шарнира Df-IAB22M в момент времени 24 ч представлены на ФИГ. 30. Все новые варианты шарнира приводили к меньшему уровню поглощения почками. Со всеми вариантами шарнира было получено хорошее нацеливание на опухоль, которое варьировало от 17 до 28% ИД/г. В целом, сигнал от печени являлся аналогичным сигналу от почек.

[0547] Анализ биораспределения (ФИГ. 31) проводили для меченных радиоактивным изотопом 89Zr MA IAB22 с различными вариантами шарнира ФИГ. 30. Для вариантов шарнира IAB22M наблюдалось аналогичное биораспределение. По сравнению с EH1 γ1 было установлено превосходное нацеливание на опухоль и поглощение. Наблюдался высокий уровень клиренса через печень, как и прогнозировали на основе данных, представленных в настоящем изобретении, для MA, который остается димером.

ПРИМЕР 9

[0548] Миниантитело против АСКП из таблицы 2 конъюгировали с соответствующим хелатирующим средством посредством остатков цистеина на миниантителе, а затем метили радиоактивным изотопом In-111 (или, в качестве альтернативы, Цирконием-89 или Медью-64). В качестве альтернативы, миниантитело можно пометить радиоактивным изотопом посредством прямого мечения радиоактивным изотопом иода по остатку тирозина.

[0549] Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку. Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 10 минут после инфузии. В день инкубации локализацию миниантитела обнаруживали посредством сканирования ПЭТ или внешней сцинтиляционной системы.

[0550] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации повышенных уровней АСКП у субъекта.

ПРИМЕР 10

[0551] Миниантитело против ПСМА из таблицы 2 конъюгировали с соответствующим хелатирующим средством посредством остатков цистеина на миниантителе, а затем метили радиоактивным изотопом In-111 (или, в качестве альтернативы, Цирконием-89 или Медью-64). В качестве альтернативы, миниантитело можно пометить радиоактивным изотопом посредством прямого мечения радиоактивным изотопом иода по остатку тирозина.

[0552] Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку. Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 10 минут после инфузии. В день инкубации локализацию миниантитела обнаруживали посредством сканирования ПЭТ или внешней сцинтиляционной системы.

[0553] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации повышенных уровней ПСМА у субъекта.

ПРИМЕР 11

[0554] После успешной визуализации ПСМА-положительных опухолей посредством

миниантитела против ПСМА из таблицы 2 можно исследовать биораспределение миниантитела согласно вариантам реализации настоящего изобретения. В данных исследованиях биораспределения можно исследовать локализацию миниантитела в участке опухоли по сравнению с другими выбранными тканями в течение времени после инъекции. Данные исследования можно применять, чтобы продемонстрировать высокие соотношения сигналов от опухоли и от фона. Применение миниантител, вероятно, приведет к высокому соотношению сигналов от опухоли и от фона при визуализации опухоли, которая сверхэкспрессирует ПСМА, такой как рак предстательной железы. Положительные результаты данных экспериментов визуализации и биораспределения могут привести к токсикологическим экспериментам при подготовке к клиническим исследованиям.

[0555] Затем исследования способности миниантитела нацеливаться на ПСМА человека in vivo посредством ПЭТ-визуализации можно продемонстрировать в ходе клинических исследований на пациентах, страдающих от рака. Вкратце, меченное радиоактивным изотопом миниантитело можно внутривенно инъецировать пациентам, страдающим от рака, форма рака которых, как известно, сверхэкспрессирует ПСМА. В конкретные временные точки после инъекции можно проводить серийное сканирование каждого пациента методом ПЭТ. После итогового сканирования пациентов можно сканировать методом КТ для получения анатомического эталона. Затем изображения ПЭТ и КТ для каждого пациента можно проанализировать для оценки нацеливания на опухоль и специфичности.

ПРИМЕР 12

[0556] Миниантитело против 5Т4 из таблицы 2 конъюгировали с соответствующим хелатирующим средством посредством остатков цистеина на миниантителе, а затем метили радиоактивным изотопом In-111 (или, в качестве альтернативы, Цирконием-89 или Медью-64). В качестве альтернативы, миниантитело можно пометить радиоактивным изотопом посредством прямого мечения радиоактивным изотопом иода по остатку тирозина.

[0557] Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку. Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 10 минут после инфузии. В день инкубации локализацию миниантитела обнаруживали посредством сканирования ПЭТ или внешней сцинтиляционной системы.

[0558] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации повышенных уровней 5Т4 у субъекта.

ПРИМЕР 13

[0559] Вводят миниантитело против 5Т4 из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии субъекту, который страдает от рака толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и/или предстательной железы, в количестве, достаточном для связывания с достаточными уровнями 5Т4 у субъекта, для обеспечения снижения симптомов рака толстой и прямой кишок, почек, молочной железы, яичников, желудка, легких и/или предстательной железы у субъекта.

ПРИМЕР 14

[0560] Миниантитело против CD8 из таблицы 2 конъюгировали с соответствующим хелатором посредством остатков цистеина на миниантителе, а затем метили радиоактивным изотопом In-111 (или, в качестве альтернативы, Цирконием-89 или Медью-64). В качестве альтернативы, миниантитело можно пометить радиоактивным изотопом посредством прямого мечения радиоактивным изотопом иода по остатку

тирозина.

[0561] Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку. Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 10 минут после инфузии. В день инкубации локализацию миниантитела обнаруживали посредством сканирования ПЭТ или внешней сцинтиляционной системы.

[0562] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации CD8 у субъекта.

ПРИМЕР 15

[0563] Вводят миниантитело против CD8 из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку.

[0564] Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 1 часа после инфузии. Вводят вторичное антитело, гуманизированное миниантитело, которое специфично связывается с миниантителом против CD8 и является конъюгированным с ^{33}P. В день инкубации вторичное антитело вводили субъекту посредством инфузии. Вторичное антитело инкубировали в течение одного часа. Локализацию миниантитела обнаруживали посредством ПЭТ-визуализации с помощью маркера на вторичном антителе.

[0565] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации CD8 у субъекта.

ПРИМЕР 16

[0566] Вводят миниантитело против CD8 из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии субъекту, страдающему от нарушения, связанного с CD8, в количестве, достаточном для связывания с достаточными уровнями CD8 в субъекте, для обеспечения снижения симптомов нарушения, связанного с CD8. Миниантитело конъюгировали с Иттрием-90.

ПРИМЕР 17

[0567] Вводят миниантитело против CD8 из таблицы 2. Миниантитело инъецировали пациенту, которого вакцинировали антигеном инфекционного заболевания или опухоль-ассоциированным антигеном. Направленные на CD8 фрагменты увеличивали иммунный ответ и усиливали цитолитическую активность CD8-экспрессирующих Т-клеток.

ПРИМЕР 18

[0568] Вводят миниантитело против CD8 из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии субъекту, страдающему от нарушения, связанного с CD8, в количестве, достаточном для связывания CD8 на достаточных уровнях в субъекте, для обеспечения снижения симптомов нарушения, связанного с CD8. Миниантитело конъюгировали с Lu-177. Миниантитело против CD8 связывается с клеткой, экспрессирующей CD8, и Lu-177 приводит к уничтожению клетки.

[0569] Результаты свидетельствуют, что конструкции все еще связываются с клеточным CD8 человека.

ПРИМЕР 19

[0570] Миниантитело против CD3 из таблицы 2 конъюгировали с соответствующим хелатирующим средством посредством остатков цистеина на миниантителе, а затем метили радиоактивным изотопом In-111 (или, в качестве альтернативы, Цирконием-89 или Медыо-64). В качестве альтернативы, миниантитело можно пометить радиоактивным изотопом посредством прямого мечения радиоактивным изотопом иода по остатку тирозина.

[0571] Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку. Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 10

минут после инфузии. В день инкубации локализацию миниантитела обнаруживали посредством сканирования ПЭТ или внешней сцинтиляционной системы.

[0572] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации повышенных уровней CD3 у субъекта.

ПРИМЕР 20

[0573] Вводят миниантитело против CD3 из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии субъекту, страдающему от ревматоидного артрита, в количестве, достаточном для связывания CD3 на достаточных уровнях в субъекте, для обеспечения снижения симптомов ревматоидного артрита у субъекта.

ПРИМЕР 21

[0574] Идентифицировали субъекта, подверженного риску развития неприемлемо интенсивного цитокинового шторма в результате введения OKT3. Субъект испытывал потребность в снижении уровня белков CD3 в его системе, поскольку субъект страдал от CD3-зависимого нарушения. Одно из миниантител против CD3, описанных в настоящем документе, выбирали и вводили субъекту на уровне, который является эффективным для надлежащего связывания с CD3, без возникновения цитокинового шторма.

ПРИМЕР 22

[0575] Вводят гуманизированное миниантитело против CD3 из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии здоровому субъекту-человеку. Миниантитело инкубировали в субъекте-человеке в течение 1 часа после инфузии. Вводят вторичное антитело, гуманизированное миниантитело, которое специфично связывается с миниантителом CD3 и является конъюгированным с ^{33}P. Немедленно после одного часа инкубации субъекту посредством инфузии вводили вторичное антитело. Вторичное антитело инкубировали в течение одного часа. Немедленно после инкубации вторичного антитела в течение одного часа обнаруживали локализацию миниантитела посредством ПЭТ-визуализации.

[0576] Локализацию миниантитела применяли для определения локализации CD3 у субъекта.

ПРИМЕР 23

[0577] Идентифицировали субъекта, подверженного риску развития неприемлемо интенсивного цитокинового шторма в результате введения OKT3. Субъект испытывал потребность в снижении уровня белков CD3 в его системе, поскольку субъект страдал от CD3-зависимого нарушения. Одно из миниантител против CD3, описанных в настоящем документе, выбирали и вводили субъекту на уровне, который является эффективным для надлежащего связывания с CD3, без возникновения цитокинового шторма.

[0578] В случае необходимости миниантитело или миниантитела можно конъюгировать с терапевтическим средством для лечения CD3-зависимого нарушения.

[0579] Субъект может страдать от любого количества конкретных CD3-зависимых нарушений, каждое из которых, в качестве альтернативы, может представлять собой ревматоидный артрит, множественный склероз, диабет 1 типа или красную волчанку.

ПРИМЕР 24

[0580] Вводят миниантитело против АСКП из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии субъекту, страдающему от нарушения, связанного с АСКП, в количестве, достаточном для связывания на достаточных уровнях АСКП в субъекте, для обеспечения снижения симптомов нарушения, связанного с АСКП. Миниантитело конъюгировали с Иттрием-90.

ПРИМЕР 25

[0581] Вводят миниантитело против ПСМА из таблицы 2. Миниантитело вводили посредством внутривенной инфузии субъекту, страдающему от нарушения, связанного с ПСМА, в количестве, достаточном для связывания на достаточных уровнях ПСМА в субъекте, для обеспечения снижения симптомов нарушения, связанного с ПСМА. Миниантитело конъюгировали с Иттрием-90.

[0582] В настоящей заявке использование единственного числа может включать множественное число, если конкретно не указано обратное или если, как в свете настоящего изобретения понимает специалист в данной области техники, единственное число является единственным функциональным вариантом реализации. Таким образом, например, объект в единственном числе может означать более чем один объект, и «один вариант реализации» может означать, что описание относится к нескольким вариантам реализации.

[0583] Все источники, ссылки на которые приводятся в настоящем документе, включая патенты, заявки на патент, статьи, пособия и т.п., и источники, ссылки на которые приводятся в данных источниках, в такой степени, в какой они уже не представлены, полностью включены посредством ссылки. В случае если один или более из включенных литературных и аналогичных материалов отличается от настоящей заявки или противоречит настоящей заявке, включая, без ограничения, определенные термины, использование терминов, описание методик или т.п., настоящая заявка имеет определяющее значение.

[0584] Приведенное выше описание и примеры детализируют определенные варианты реализации. Следует понимать, однако, что вне зависимости от того, насколько подробно вышеуказанное описание может быть представлено в тексте, настоящее изобретение можно реализовать на практике множеством способов, и настоящее изобретение должно быть истолковано согласно прилагаемой формуле изобретения и ее любым эквивалентам.

(57) Формула изобретения

1. Аминокислотная шарнирная область для применения в антигенсвязывающей конструкции, содержащая EPKSSDKTHTCPPCPPC,

причем указанная шарнирная область находится в мини-антителе.

2. Аминокислотная шарнирная область по п. 1, дополнительно содержащая удлиняющую последовательность или нижнюю шарнирную последовательность, С-концевую относительно последнего цистеина в EPKSSDKTHTCPPCPPC.

3. Аминокислотная шарнирная область по п. 2, характеризующаяся тем, что указанная удлиняющая последовательность или нижняя шарнирная последовательность содержит по меньшей мере одну аминокислоту из S, G, A, P или V.

4. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 2, 3, характеризующаяся тем, что указанная удлиняющая последовательность содержит по меньшей мере GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59).

5. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-4, содержащая линкерную последовательность, которая содержит по меньшей мере APPVAGP (SEQ ID NO: 60).

6. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-5, дополнительно содержащая нижнюю шарнирную область или удлиняющую область, примыкающую к центральной шарнирной области.

7. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-6, характеризующаяся тем, что указанная аминокислотная шарнирная область содержит по меньшей мере

одну из следующих последовательностей: EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26) или EPKSSDKTHTCPPCPPCAPELLGGP (SEQ ID NO: 25).

8. Аминокислотная шарнирная область для применения в антигенсвязывающей конструкции, содержащая: центральную шарнирную последовательность, имеющую одну последовательность из: CPPCPPC (SEQ ID NO: 52) или CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54), присоединенную к верхней шарнирной последовательности ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48) или EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46),

причем указанная шарнирная область находится в мини-антителе.

9. Аминокислотная шарнирная область по п. 8, характеризующаяся тем, что верхняя шарнирная последовательность представляет собой EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46).

10. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 8, 9, характеризующаяся тем, что указанная аминокислотная шарнирная область дополнительно содержит нижнюю шарнирную область или удлиняющую область, присоединенную с С-конца к центральной шарнирной области.

11. Аминокислотная шарнирная область по п. 10, характеризующаяся тем, что указанная нижняя шарнирная область или удлиняющая область содержит по меньшей мере одну последовательность из: GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59), или APPVAGP (SEQ ID NO: 60), или APELLGGP (SEQ ID NO: 58).

12. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-11, характеризующаяся тем, что указанная шарнирная область содержит по меньшей мере четыре цистеина на цепь.

13. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-11, характеризующаяся тем, что указанная шарнирная область содержит по меньшей мере пять цистеинов на цепь.

14. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-13, характеризующаяся тем, что цистеины распределены на протяжении указанной аминокислотной шарнирной области в повторяющемся мотиве CXX или CXY.

15. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-14, отличающаяся тем, что указанная шарнирная область находится в моноспецифичном антителе.

16. Аминокислотная шарнирная область по любому из пп. 1-14, характеризующаяся тем, что указанная шарнирная область находится в биспецифичном антителе.

17. Аминокислотная шарнирная область по п. 16, характеризующаяся тем, что указанное биспецифичное антитело собрано в соотношении 1:1.

18. Фармацевтическая композиция, содержащая мини-антитело, содержащее аминокислотную шарнирную область по любому из пп. 1-17, и

поддающийся обнаружению маркер.

19. Фармацевтическая композиция по п. 18, характеризующаяся тем, что в указанной композиции наблюдается менее 5% агрегации мини-антитела и при этом присутствует по меньшей мере 1 мкг мини-антитела на 100 мг.

20. Фармацевтическая композиция, содержащая мини-антитело, содержащее аминокислотную шарнирную область по любому из пп. 1-17, и

терапевтическое средство.

21. Мини-антитело, содержащее

scFv;

CH3 и

аминокислотную шарнирную область по любому из пп. 1-17,

где указанная аминокислотная шарнирная область присоединяет scFv к CH3 и при этом указанное мини-антитело связывает одну или более молекул-мишеней.

22. Мини-антитело, содержащее:
scFv;
CH3 и
аминокислотную шарнирную область, содержащую EPKSSDKTHTCPPCPPC;
где указанная аминокислотная шарнирная область присоединяет scFv к CH3 и при этом указанное мини-антитело связывает одну или более молекул-мишеней.

23. Мини-антитело по п. 22, где аминокислотная шарнирная область содержит EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 26).

24. Мини-антитело по любому из пп. 21-23, где указанные одна или более молекул-мишеней связаны с нарушением, с иммунотерапией и/или прогрессированием иммунного ответа на нарушение и/или иммунотерапию.

25. Мини-антитело по любому из пп. 21-23, где указанная одна или более молекул-мишеней представляет собой по меньшей мере одну из CD8, CD3, 5T4, АСКП и/или ПСМА.

1

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
<110> ImaginAb, Inc. Chan, Chio Mui Gudas, Jean M. Olafsen, Tove Satpayev, Daulet Kadyl
Torgov, Michael Yuri <120> АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ КОНСТРУКЦИИ ПРОТИВ МОЛЕКУЛ-МИШЕНЕЙ <130>
IGNAB.030WO <150> 62/202665 <151> 2015-08-07 <160> 256 <170> FastSEQ for Windows Version 4.0 <210> 1
<211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223>
Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7 <223>
Xaa = любая аминокислота <400> 1 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 2
<211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой аминокислотой <220>
<221> VARIANT <222> 2-6, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa
= любая аминокислота <400> 2 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 3 <211> 8 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Миниантитело <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота или отсутствие аминокислоты <220>
<221> VARIANT <222> 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 3 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 4 <211> 9 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Миниантитело <220>
<221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота или отсутствие аминокислоты <220> <221> VARIANT <222> 3, 4, 6, 7
<223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 9 <223> Xaa = любая аминокислота, отсутствие аминокислоты или P
<400> 4 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa 1 5 <210> 5 <211> 1128 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220> <223> IAB2M EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 5 gaagtgcagc tggtgcagag
cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag
cgtgaaaatt 60 agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcattgggt gaaacaggcg
120 agcggcaaag gcctggaatg gattggcaac
attaacccga acaacggcgg caccacctat 180 aaccagaaat ttgaagatcg cgcgaccctg accgtggata
aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 300 aactttgatt
attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga
gcagcggcag caccagcggc 360 ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat
gacccagagc 420 ccgagcagcc
tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcgagccag 480 gatgtgggca ccgcggtgga
ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc
gaaactgctg 540 atttattggg cgagcacccg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc
600 ggcaccgatt ttaccctgac
cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatttt 660 tgccagcagt ataacagcta tccgctgacc
tttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 720
gaaccgaaaa gcagcgataa aacccatacc tgcccgccgt gcccgccgtg cccgccgtgc 780 ggcggcggca
gcagcggcgg cggcagcggc
ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 840 ctgccgccga gccgcgaaga aatgaccaaa aaccaggtga
gcctgacctg cctggtgaaa 900
ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac 960 tataaaacca
ccccgccggt gctggatagc gatggcagct
tttttctgta tagcaaactg 1020 accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta
gctgcagcgt gatgcatgaa 1080 gcgctgcata
accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggc 1128 <210> 6 <211> 1134 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность <220>
<223> IAB2M EH8 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 6 gaagtgcagc tggtgcagag
cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag
cgtgaaaatt 60 agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcattgggt gaaacaggcg
120 agcggcaaag gcctggaatg gattggcaac
attaacccga acaacggcgg caccacctat 180 aaccagaaat ttgaagatcg cgcgaccctg accgtggata
aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 300 aactttgatt
attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga
gcagcggcag caccagcggc 360 ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat
gacccagagc 420 ccgagcagcc
tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcgagccag 480 gatgtgggca ccgcggtgga
ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc

2

gaaactgctg 540 atttattggg cgagcacccg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc
600 ggcaccgatt ttaccctgac
cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatttt 660 tgccagcagt ataacagcta tccgctgacc
tttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 720
gaactgaaaa ccccgctggg cgataccacc catacctgcc cgccgtgccc gccgtgcccg 780 ccgtgcggcg
gcggcagcag cggcggcggc
agcggcggcc agccgcgcga accgcaggtg 840 tataccctgc cgccgagccg cgaagaaatg accaaaaacc
aggtgagcct gacctgcctg 900
gtgaaaggct tttatccgag cgatattgcg gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa 960 aacaactata
aaaccacccc gccggtgctg gatagcgatg
gcagcttttt tctgtatagc 1020 aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag cagggcaacg
tgtttagctg cagcgtgatg 1080 catgaagcgc
tgcataacca ttatacccag aaaagcctga gcctgagccc gggc 1134 <210> 7 <211> 373 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> IAB2M EH3 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 7 Asp Ile Val Met Thr Gln
Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
Val Gly 1 5 10 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr
Ala 20 25 30 Val Asp Trp Tyr Gln
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile 35 40 45 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr
Gly 50 55 60 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 65
70 75 80 Glu Asp Phe Ala Asp Tyr
Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu 85 90 95 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly
100 105 110 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu Val Gln 115
120 125 Leu Val Gln Ser Gly Ala
Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys 130 135 140 Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly
Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Thr Ile
His 145 150 155 160 Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn
Ile 165 170 175 Asn Pro Asn Asn
Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg 180 185 190 Ala Thr Leu Thr Val
Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu 195 200 205 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
Ala Gly 210 215 220 Trp Asn
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 225 230 235 240 Glu Pro
Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
Cys Pro Pro Cys Pro Pro 245 250 255 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
Gly Gln Pro Arg Glu 260 265 270
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn 275 280 285 Gln
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile 290 295 300 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr 305 310
315 320 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys 325 330
335 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys 340 345 350 Ser Val Met His Glu Ala Leu His
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
355 360 365 Ser Leu Ser Pro Gly 370 <210> 8 <211> 376 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
IAB2M EH5 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 8 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser
Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10
15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala 20 25 30 Val
Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile 35 40 45 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro
Asp Arg Phe Thr Gly 50 55 60 Ser
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80 Glu Asp
Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln
Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu 85 90 95 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
Ser Thr Ser Gly 100 105 110 Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu Val Gln 115 120 125 Leu Val
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
Pro Gly Ala Ser Val Lys 130 135 140 Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
Glu Tyr Thr Ile His 145 150 155
160 Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile 165 170 175
Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr
Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg 180 185 190 Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu
195 200 205 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly 210
215 220 Trp Asn Phe Asp Tyr Trp

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 225 230 235 240 Glu Pro Lys Ser Ser Asp
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
Pro Pro 245 250 255 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gln 260 265 270 Pro Arg Glu Pro
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 275 280 285 Thr Lys Asn Gln Val
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
Phe Tyr Pro 290 295 300 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
Asn Asn 305 310 315 320 Tyr Lys
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu 325 330 335 Tyr Ser Lys
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
Gln Gln Gly Asn Val 340 345 350 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
His Tyr Thr Gln 355 360 365 Lys
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 370 375 <210> 9 <211> 378 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH8 гамма 1 (Миниантитело 1)
<400> 9 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10
15 Asp
Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala 20 25 30 Val Asp Trp
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
Pro Lys Leu Leu Ile 35 40 45 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg
Phe Thr Gly 50 55 60 Ser Gly Ser
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80 Glu Asp Phe Ala
Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn
Ser Tyr Pro Leu 85 90 95 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Ser Thr
Ser Gly 100 105 110 Gly Gly Ser
Gly Gly Gly Gly Gly Ser Ser Glu Val Gln 115 120 125 Leu Val Gln Ser
Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
Ala Ser Val Lys 130 135 140 Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
Thr Ile His 145 150 155 160 Trp
Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile 165 170 175 Asn Pro
Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn
Gln Lys Phe Glu Asp Arg 180 185 190 Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr
Ala Tyr Met Glu Leu 195 200
205 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly 210 215 220
Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 225 230 235 240 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp
Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
245 250 255 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 260
265 270 Gly Gln Pro Arg Glu Pro
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu 275 280 285 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
Phe 290 295 300 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
305 310 315 320 Asn Asn Tyr Lys
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe 325 330 335 Phe Leu Tyr Ser Lys
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
Gln Gln Gly 340 345 350 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
His Tyr 355 360 365 Thr Gln Lys
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 370 375 <210> 10 <211> 373 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
IAB2M EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 10 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala
Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly
Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr 20 25 30 Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr
Tyr Asn Gln Lys Phe 50 55 60
Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
Gly Thr Thr Val Thr 100 105
110 Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly 115 120 125
Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu 130 135 140 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln 145
150 155 160 Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala 165
170 175 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro 180 185 190 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
Ile 195 200 205 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr
210 215 220 Asn Ser Tyr Pro Leu
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 225 230 235 240 Glu Pro Lys Ser Ser

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
Cys Pro Pro 245 250 255 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro
Arg Glu 260 265 270 Pro Gln Val
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn 275 280 285 Gln Val Ser Leu
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
Pro Ser Asp Ile 290 295 300 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
Tyr Lys Thr 305 310 315 320 Thr
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys 325 330 335 Leu Thr
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
Gly Asn Val Phe Ser Cys 340 345 350 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
Thr Gln Lys Ser Leu 355 360 365
Ser Leu Ser Pro Gly 370 <210> 11 <211> 376 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 11 Glu
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val
Lys
Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr 20 25 30 Thr Ile His Trp Val
Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu
Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys
Phe 50 55 60 Glu Asp Arg Ala
Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Ser
Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
Thr 100 105 110 Val Ser Ser Gly
Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly 115 120 125 Gly Gly Gly Ser Ser
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro
Ser Ser Leu 130 135 140 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala
Ser Gln 145 150 155 160 Asp Val
Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala 165 170 175 Pro Lys Leu
Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
His Thr Gly Val Pro 180 185 190 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile 195 200 205 Ser
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr 210 215 220 Asn Ser
Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 225 230 235 240 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 245
250 255 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln 260 265
270 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 275 280 285 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn 305
310 315 320 Tyr Lys Thr Thr Pro
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu 325 330 335 Tyr Ser Lys Leu Thr Val
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
Asn Val 340 345 350 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
Gln 355 360 365 Lys Ser Leu Ser
Leu Ser Pro Gly 370 375 <210> 12 <211> 378 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M EH8 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 12 Glu
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val
Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr 20 25 30 Thr Ile His Trp
Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu
Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys
Phe 50 55 60 Glu Asp Arg Ala
Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Ser
Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
Thr 100 105 110 Val Ser Ser Gly
Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly 115 120 125 Gly Gly Gly Ser Ser
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro
Ser Ser Leu 130 135 140 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala
Ser Gln 145 150 155 160 Asp Val
Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala 165 170 175 Pro Lys Leu
Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
His Thr Gly Val Pro 180 185 190 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile 195 200 205 Ser
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr 210 215 220 Asn Ser
Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 225 230 235 240 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys 245

5

250 255 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 260 265
270 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu 275 280 285 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
290 295 300 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu 305
310 315 320 Asn Asn Tyr Lys Thr
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe 325 330 335 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
Gln Gly 340 345 350 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
Tyr 355 360 365 Thr Gln Lys Ser
Leu Ser Leu Ser Pro Gly 370 375 <210> 13 <211> 107 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Последовательность вариабельной области легкой
цепи IAB2M <400> 13 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
Gly 1 5 10 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala 20
25 30 Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile 35 40 45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly 50 55 60 Ser Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80 Glu Asp Phe
Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser
Tyr Pro Leu 85 90 95 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 100 105 <210>
14 <211> 115 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность вариабельной
области тяжелой цепи IAB2M <400> 14 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr
Phe Thr Glu Tyr 20 25 30 Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu
Trp Ile 35 40 45 Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60 Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70
75 80 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95
Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
Gly Thr Thr Val Thr 100 105 110 Val Ser Ser 115 <210> 15 <211> 107 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность
вариабельной области легкой цепи IAB22M <400> 15 Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr
Ser Arg Ser Ile Ser Gln Tyr 20 25 30 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile 35 40 45 Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60 Ser
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80 Glu Asp
Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
His Asn Glu Asn Pro Leu 85 90 95 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100
105 <210> 16 <211> 118 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность
вариабельной области тяжелой цепи IAB22M <400> 16 Glu Val Gln Leu Val Glu
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 1 5 10 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30 Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile 35 40
45 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp
Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys Phe 50 55 60 Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr
Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 65 70 75
80 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Gly
Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val
Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr 100 105 110 Leu Val Thr Val Ser Ser 115 <210> 17
<211> 107 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность вариабельной
области легкой цепи IAB20M <400> 17 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr
Leu Ser Val Ser Pro Gly 1 5 10 15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln
Ser Val Ser Asn Asp 20 25 30 Val
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile 35 40 45 Ser Tyr Thr
Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro
Asp Arg Phe Ser Gly 50 55 60 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
Leu Gln Ala 65 70 75 80 Glu Asp
Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro 85 90 95 Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100
105 <210> 18 <211> 120 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> Последовательность вариабельной области тяжелой цепи IAB20M <400> 18 Gln
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val
Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr 20 25 30 Tyr Met His Trp
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Arg Ile Asn Pro Asn
Asn Gly Val Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe 50 55 60 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val
Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85
90 95 Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln 100 105
110 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
Ser 115 120 <210> 19 <211> 106 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> Последовательность вариабельной области легкой цепи антитела против
CD3 <400> 19 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly 1 5
10 15 Glu Arg Ala Thr Leu
Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met 20 25 30 Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
Tyr 35 40 45 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg Gly Ser 50
55 60 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu 65 70 75 80 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
85 90 95 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100 105 <210> 20 <211> 119
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность
вариабельной области тяжелой цепи антитела против CD3 <400> 20 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 Arg Tyr 20 25 30 Thr Met
His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 35 40 45 Gly Tyr Ile Asn
Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr
Asn Gln Lys Phe 50 55 60 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Ile Ser Thr
Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu
Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Arg Tyr Tyr Asp
Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr
Trp Gly Gln Gly 100 105 110 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 115 <210> 21 <211> 23
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> NH1 IgG1 человека
<400> 21 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
Ala 1 5 10 15 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 20 <210> 22 <211> 24 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220>
<223> EH1 IgG1 человека <400> 22 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
Pro Cys Gly Gly 1 5 10 15 Gly
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 20 <210> 23 <211> 23 <212> PRT <213> Homo sapiens
<220> <223> NH2 IgG1 человека <400> 23 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
Cys Pro Pro Cys Pro Ala 1 5 10 15 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 20 <210> 24 <211>
24 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> EH2 IgG1
человека <400> 24 Glu Pro Lys
Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly 1 5 10 15 Gly Ser Ser Gly
Gly Gly Ser Gly 20 <210> 25 <211>
25 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> NH3 IgG1
человека <400> 25 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 1 5 10 15 Cys Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 20
25 <210> 26 <211> 27 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> EH3 IgG1 человека <400>
26 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
Cys Pro Pro Cys Pro Pro 1 5 10 15 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 20
25 <210> 27 <211> 28 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> NH4 IgG1 человека <400>
27 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Val Glu 1 5 10 15 Cys
Pro Pro Cys Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 20 25 <210> 28 <211> 30
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> EH4 IgG1 человека
<400> 28 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Val Glu 1 5 10
15 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 20 25 30 <210> 29
<211> 28 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> NH5 IgG1
человека <400> 29 Glu Pro Lys Ser Ser Asp
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 1 5 10 15 Cys Pro Pro Cys Ala Pro Glu
Leu Leu Gly Gly Pro 20 25 <210> 30
<211> 30 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> EH5 IgG1
человека <400> 30 Glu Pro Lys Ser Ser Asp
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 1 5 10 15 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 20 25
30 <210> 31 <211> 19 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> NH1 IgG2 человека <400> 31 Glu Arg Lys
Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val 1 5 10 15 Ala Gly Pro <210>
32 <211> 22 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> EH1 IgG2 человека <400> 32 Glu Arg
Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly
Gly Gly Ser 1 5 10 15 Ser Gly Gly Gly Ser Gly 20 <210> 33 <211> 19 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность <220>
<223> NH2 IgG2 человека <400> 33 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
Ala Pro Pro Val 1 5 10 15 Ala
Gly Pro <210> 34 <211> 22 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> EH2 IgG2 человека <400> 34 Glu Arg
Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15 Ser Gly Gly
Gly Ser Gly 20 <210> 35 <211> 29 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> EH6 IgG3/IgG1 <400> 35 Glu Leu Lys Thr Pro Leu
Gly Asp Thr
Thr His Thr Cys Val Glu Cys 1 5 10 15 Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly
Gly Ser Gly 20 25 <210> 36 <211>
29 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> EH7 IgG3/IgG1
<400> 36 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp
Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys 1 5 10 15 Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Gly Ser Gly 20 25 <210> 37
<211> 32 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> EH8
IgG3/IgG1 <400> 37 Glu Leu Lys Thr Pro Leu
Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys 1 5 10 15 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly
Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30 <210> 38 <211> 20 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> NH IgG4 <400> 38 Glu Ser Lys Tyr
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe 1 5 10 15 Leu Gly Gly Pro 20
<210> 39 <211> 22 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> EH IgG4<400> 39 Glu Ser Lys
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly
Gly Ser 1 5 10 15 Ser Gly Gly Gly Ser Gly 20 <210> 40 <211> 107 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220>
<223> CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1) <400> 40 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
Asp 1 5 10 15 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe 20
25 30 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu 35 40 45 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
Phe 50 55 60 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly 65
70 75 80 Asn Val Phe Ser Cys Ser
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr 85 90 95 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
Pro Gly Lys 100 105 <210> 41
<211> 107 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> CH3 IgG1
человека (аллотип nG1m1) <400> 41 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
Pro Pro Ser Arg Glu 1 5 10 15 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe 20 25 30 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
Gly Gln Pro Glu 35 40 45 Asn
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe 50 55 60 Phe Leu Tyr
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
Ser Arg Trp Gln Gln Gly 65 70 75 80 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
Leu His Asn His Tyr 85 90 95 Thr
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 100 105 <210> 42 <211> 107 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> CH3 IgG2 человека <400> 42
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu 1 5 10 15 Glu
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe 20 25 30 Tyr Pro Ser
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
Asn Gly Gln Pro Glu 35 40 45 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
Gly Ser Phe 50 55 60 Phe Leu
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly 65 70 75 80 Asn Val Phe
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
Leu His Asn His Tyr 85 90 95 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 100 105
<210> 43 <211> 107 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> CH3 IgG3 человека <400> 43
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
Pro Pro Ser Arg Glu 1 5 10 15 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
Val Lys Gly Phe 20 25 30 Tyr Pro
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu 35 40 45 Asn Asn Tyr Asn
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
Asp Gly Ser Phe 50 55 60 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
Gln Gly 65 70 75 80 Asn Ile Phe
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe 85 90 95 Thr Gln Lys Ser Leu
Ser Leu Ser Pro Gly Lys 100 105
<210> 44 <211> 107 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Страница

8

CH3 IgG4 человека <400> 44 Gly Gln Pro
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu 1 5 10 15 Glu Met Thr Lys
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
Val Lys Gly Phe 20 25 30 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
Pro Glu 35 40 45 Asn Asn Tyr
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe 50 55 60 Phe Leu Tyr Ser Arg
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
Trp Gln Glu Gly 65 70 75 80 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
Asn His Tyr 85 90 95 Thr Gln Lys
Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys 100 105 <210> 45 <211> 10 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
Верхний шарнир <400> 45 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr 1 5 10 <210> 46
<211> 10 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Верхний шарнир <400> 46 Glu Pro Lys
Ser Ser Asp Lys Thr His Thr 1 5 10 <210> 47
<211> 3 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Верхний
шарнир <400> 47 Glu Arg Lys 1 <210> 48 <211>
12 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Верхний шарнир
<400> 48 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr
Thr His Thr 1 5 10 <210> 49 <211> 7 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Верхний шарнир <400> 49 Glu
Ser Lys Tyr Gly Pro Pro 1 5 <210> 50 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens <400>
50 Cys Pro Pro Cys 1 <210>
51 <211> 5 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 51 Cys Pro Pro Cys Pro 1 5 <210>
52 <211> 7 <212> PRT <213>
Homo sapiens <400> 52 Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys 1 5 <210> 53 <211> 10 <212>
PRT <213> Homo sapiens <400>
53 Cys Pro Pro Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys 1 5 10 <210> 54 <211> 10 <212> PRT
<213> Homo sapiens <400> 54
Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys 1 5 10 <210> 55 <211> 9 <212> PRT <213>
Homo sapiens <400> 55 Cys
Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro 1 5 <210> 56 <211> 9 <212> PRT <213> Homo
sapiens <400> 56 Ser Cys Val Glu
Cys Pro Pro Cys Pro 1 5 <210> 57 <211> 7 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 57
Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
1 5 <210> 58 <211> 8 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 58 Ala Pro Glu Leu Leu
Gly Gly Pro 1 5 <210> 59
<211> 10 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 59 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly
Ser Gly 1 5 10 <210> 60
<211> 7 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 60 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro 1 5
<210> 61 <211> 8 <212> PRT
<213> Homo sapiens <400> 61 Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro 1 5 <210> 62 <211>
18 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Последовательность линкера <400> 62 Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Ser Gly Gly Gly Gly
I 5 10 15 Ser Ser <210> 63 <211> 12 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Последовательность линкера <400> 63
Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser 1 5 10 <210> 64 <211> 15 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> Последовательность линкера <400> 64 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15
<210> 65 <211> 10 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Последовательность линкера <400> 65 Gly Gly Gly Gly
Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10 <210> 66 <211> 5 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Последовательность линкера <400> 66 Gly Gly Gly
Gly Ser 1 5 <210> 67 <211> 106 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223>
Последовательность вариабельной области легкой цепи IAB1M (A11) <400> 67 Asp Ile
Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5
10 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Arg Phe Ile 20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr 35 40 45 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
Arg Phe Ser Gly Ser 50 55 60 Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu 65 70 75 80 Asp Phe
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
Gly Ser Ser Pro Phe Thr 85 90 95 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100 105
<210> 68 <211> 112 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность

вариабельной области тяжелой цепи IAB1M (A11) <400> 68 Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 1 5 10 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
Tyr 20 25 30 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45 Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn
Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe 50 55 60 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 65
70 75 80 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 100 105 110 <210> 69 <211> 20 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> Легкая цепь каппа Ig мыши <400> 69 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5
10 15 Gly Ser Thr Gly 20 <210> 70 <211> 18 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Сывороточный альбумин человека (САЧ) <400> 70 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala 1 5 10 15 Tyr Ser
<210>
71 <211> 19 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Азуроцидин человека (АЦЧ) <400> 71 Met Thr Arg
Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ser 1 5 10 15 Ser Arg Ala <210>
72 <211> 28 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Пролактин <400> 72 Met Asp Ser Lys Gly Ser Ser Gln Lys Gly Ser Arg Leu Leu Leu
Leu 1 5 10 15 Leu Trp Ser Asn Leu Leu Leu Cys Gln Gly Trp Ser 20 25 <210> 73
<211> 58 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> LCMV-GPC <400> 73 Met Gly Gln Ile Val Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile
Asp 1 5 10 15 Glu Val Ile Asn Ile Asn Val Ile Ile Val Leu Ile Ile Thr Ser Ile 20 25 30 Lys Ala Val Tyr Asn Phe Ala Thr
Cys Gly Ile Leu Ala Leu Val Ser 35 40 45 Phe Leu Phe Leu Ala Gly Arg Ser Cys Gly 50 55 <210> 74 <211> 98 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> MMTV-Rem <400> 74 Met Pro Asn His Gln Ser Gly Ser Pro Thr Gly
Ser Ser Asp Leu Leu 1 5 10 15 Leu Ser Gly Lys Lys Gln Arg Pro His Leu Ala Leu Arg Arg Lys Arg 20 25 30 Arg Arg
Glu Met Arg Lys Ile Asn Arg Lys Val Arg Arg Met Asn Leu 35 40 45 Ala Pro Ile Lys Glu Lys Thr Ala Trp Gln His
Leu Gln Ala Leu Ile 50 55 60 Ser Glu Ala Glu Glu Val Leu Lys Thr Ser Gln Thr Pro Gln Asn Ser 65 70 75 80 Leu Thr
Leu Phe Leu Ala Leu Leu Ser Val Leu Gly Pro Pro Pro Val 85 90 95 Thr Gly <210>
75 <211> 7 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> HCDR1 IAB22M (CD8) <400> 75 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr 1 5 <210> 76 <211>
6 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR2 IAB22M (CD8) <400> 76 Asp Pro Ala Asn Asp Asn 1
5 <210> 77 <211> 9 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
HCDR3 IAB22M (CD8) <400> 77 Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp His 1 5 <210> 78
<211> 11 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR1 IAB22M (CD8) <400> 78 Arg Thr Ser Arg Ser Ile Ser Gln Tyr Leu Ala 1 5 10 <210>
79 <211> 7 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> LCDR2 IAB22M (CD8) <400> 79 Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser 1 5 <210> 80 <211>
9 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR3 IAB22M (CD8) <400> 80 Gln Gln His Asn Glu Asn
Pro Leu Thr 1 5 <210> 81 <211> 7 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR1 IAB2M (ПСМА)
<400> 81 Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr 1 5 <210> 82 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
HCDR2 IAB2M (ПСМА) <400> 82 Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly 1 5 <210> 83 <211> 6 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> HCDR3 IAB2M (ПСМА) <400> 83 Gly Trp Asn Phe Asp Tyr 1 5 <210> 84 <211>
II <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR1 IAB2M (ПСМА) <400> 84 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp 1 5 10 <210> 85
<211> 7 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR2 IAB2M (ПСМА) <400> 85 Trp Ala Ser Thr Arg His Thr 1 5 <210> 86 <211> 9 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> LCDR3 IAB2M (ПСМА) <400> 86 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr 1 5 <210> 87 <211> 7 <212> PRT <213> Искусственная

10

последовательность <220> <223> HCDR1 IAB20M (5T4) <400> 87 Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr 1 5 <210> 88
<211> 6 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR2 IAB20M (5T4) <400> 88 Asn Pro Asn Asn Gly Val 1 5 <210> 89 <211> 11 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR3 IAB20M (5T4) <400> 89 Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr 1 5 10 <210> 90 <211> 11 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> LCDR1 IAB20M (5T4) <400> 90 Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala 1 5 10 <210> 91 <211> 7
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR2 IAB20M (5T4) <400> 91 Tyr Thr Ser Ser Arg Tyr Ala 1
5 <210> 92 <211> 9 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR3 IAB20M (5T4) <400> 92 Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr 1 5 <210> 93
<211> 7 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR1 IAB1M (АСКП) <400> 93 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr 1 5 <210> 94 <211> 6 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR2 IAB1M (АСКП) <400> 94 Asp Pro Glu Asn Gly Asp 1 5 <210> 95 <211> 3 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> HCDR3 IAB1M (АСКП) <400> 95 Gly Gly Phe 1 <210> 96 <211> 10 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR1 IAB1M (PSCA) <400> 96 Ser Ala Ser Ser Ser Val Arg Phe Ile His 1 5 10 <210> 97 <211> 7 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR2 IAB1M (АСКП) <400> 97 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser 1 5 <210> 98 <211> 9 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> LCDR3 IAB1M
(АСКП) <400> 98 Gln Gln Trp Gly Ser Ser Pro Phe Thr 1 5 <210> 99 <211> 118 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH-K67R) IAB22M <400> 99 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 1 5 10 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr 20 25 30
Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr
Leu Tyr Ala Ser Lys Phe 50 55 60 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Leu
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp
His Trp Gly Gln Gly Thr 100 105 110 Leu Val Thr Val Ser Ser 115 <210> 100 <211> 107 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Вариабельная область легкой цепи IAB20M (VL-Q79E, V83E) <400> 100 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr
Leu Ser Val Ser Pro Gly 1 5 10 15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp 20 25 30 Val
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile 35 40 45 Ser Tyr Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro
Asp Arg Phe Ser Gly 50 55 60 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala 65 70 75 80 Glu Asp
Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro 85 90 95 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100
105 <210> 101 <211> 107 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Вариабельная область легкой цепи (VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N) IAB20M <400> 101 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly 1 5 10
15 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp 20 25 30 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile 35 40 45 Ser Tyr Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly 50 55 60 Ser
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala 65 70 75 80 Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
Asp Tyr Asn Ser Pro Pro 85 90 95 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100 105 <210> 102 <211> 120 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Вариабельная область тяжелой цепи IAB20M (VH-Q1E, Q6E) <400> 102 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
Gly Tyr 20 25 30 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Arg Ile Asn Pro Asn
Asn Gly Val Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe 50 55 60 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85
90 95 Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr
Asn Tyr Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln 100 105 110 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 <210> 103 <211> 106
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность
вариабельной области легкой цепи (VL, R62S) антитела против CD3 <400> 103 Glu
Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly 1 5 10 15 Glu Arg
Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser
Val Ser Tyr Met 20 25 30 Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
Ile Tyr 35 40 45 Asp Thr Ser
Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Ser Gly Ser 50 55 60 Gly Ser Gly Thr Asp
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
Glu Pro Glu 65 70 75 80 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro
Phe Thr 85 90 95 Phe Gly Gln Gly
Thr Lys Val Glu Ile Lys 100 105 <210> 104 <211> 119 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Последовательность вариабельной
области тяжелой цепи антитела против CD3 (VH, Q1E, Q6E) <400> 104 Glu Val Gln
Leu Val Glu 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 Arg Tyr 20
25 30 Thr Met His Trp Val Arg
Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 35 40 45 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly
Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
Phe 50 55 60 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 65
70 75 80 Met Glu Leu Ser Arg Leu
Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr
Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
Gly 100 105 110 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 115 <210> 105 <211> 394 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220>
<223> IAB22M EH1 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 105 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu
Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp
Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp Arg
Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro
50 55 60 Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 65 70
75 80 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr
Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn 100
105 110 Glu Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120
125 Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
145 150 155 160 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
165 170 175 Thr Tyr Ile His Phe
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro
Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr Ala
Ser Lys 195 200 205 Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr
Ala 210 215 220 Tyr Leu Gln Met
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly
Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp
His Trp Gly Gln Gly 245 250 255 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys
Asp Lys Thr His 260 265 270 Thr
Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly 275 280 285 Gln Pro
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
Pro Pro Ser Arg Asp Glu 290 295 300 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
Val Lys Gly Phe Tyr 305 310
315 320 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn 325 330
335 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe 340 345 350 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
Asn 355 360 365 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
370 375 380 Gln Lys Ser Leu Ser
Leu Ser Pro Gly Lys 385 390 <210> 106 <211> 396 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB22M EH3 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 106 Met
Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr
Cys Arg Thr Ser Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

Gly Lys Val Pro 50 55 60 Lys Leu
Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 65 70 75 80 Arg Phe Ser
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
Gln His Asn 100 105 110 Glu Asn
Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser Thr Ser
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
Gly Gly Gly Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
Val Gln Pro Gly 145 150 155 160
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp 165 170 175 Thr
Tyr Ile His Phe Val Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn
Thr Leu Tyr Ala Ser Lys 195 200
205 Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 210 215 220
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr
Val Phe Asp His Trp Gly Gln
Gly 245 250 255 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
260 265 270 Thr Cys Pro Pro Cys
Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly 275 280 285 Ser Gly Gly Gln Pro Arg
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
Pro Ser 290 295 300 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
Lys 305 310 315 320 Gly Phe
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln 325 330 335 Pro Glu Asn
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
Leu Asp Ser Asp Gly 340 345 350 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
Ser Arg Trp Gln 355 360 365
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn 370 375 380 His
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
Ser Pro Gly 385 390 395 <210> 107 <211> 399 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB22M EH5 гамма 1 (M1) <400> 107 Met Glu Thr Asp
Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly
Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp Arg
Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser
Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro
50 55 60 Lys Leu Leu Ile Tyr Ser
Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 65 70 75 80 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn 100
105 110 Glu Asn Pro Leu Thr
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser Thr Ser Gly Gly Gly
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
Gly 145 150 155 160 Gly Ser Leu
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp 165 170 175 Thr Tyr Ile His
Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr
Ala Ser Lys 195 200 205 Phe Gln
Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 210 215 220 Tyr Leu Gln
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp
His Trp Gly Gln Gly 245 250 255
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His 260 265 270 Thr
Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser 275 280 285 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu
Pro Gln Val Tyr Thr Leu 290 295
300 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys 305 310 315
320 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser 325 330 335 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
340 345 350 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser 355
360 365 Arg Trp Gln Gln Gly
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala 370 375 380 Leu His Asn His Tyr Thr
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
Gly 385 390 395 <210> 108 <211> 398 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB22M EH7 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 108 Met
Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
Thr Ser Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
Val Pro 50 55 60 Lys Leu Leu Ile
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 65 70 75 80 Arg Phe Ser Gly Ser
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
Thr Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
Asn 100 105 110 Glu Asn Pro Leu
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser Thr Ser Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gly Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
Pro Gly 145 150 155 160 Gly Ser
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp 165 170 175 Thr Tyr Ile
His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly
Lys Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu
Tyr Ala Ser Lys 195 200 205 Phe
Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 210 215 220 Tyr Leu
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe
Asp His Trp Gly Gln Gly 245 250 255 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Leu Lys Thr
Pro Leu Gly Asp Thr 260 265 270 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly 275 280 285 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
290 295 300 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 305
310 315 320 Val Lys Gly Phe
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 325 330 335 Gly Gln Pro Glu Asn
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
Leu Asp Ser 340 345 350 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
Ser Arg 355 360 365 Trp Gln
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 370 375 380 His Asn His
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
Ser Pro Gly 385 390 395 <210> 109 <211> 401 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB22M EH8 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 109 Met
Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
Thr Ser Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
Val Pro 50 55 60 Lys Leu Leu Ile
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 65 70 75 80 Arg Phe Ser Gly Ser
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
Thr Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
Asn 100 105 110 Glu Asn Pro Leu
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser Thr Ser Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gly Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
Pro Gly 145 150 155 160 Gly Ser
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp 165 170 175 Thr Tyr Ile
His Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly
Lys Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu
Tyr Ala Ser Lys 195 200 205 Phe
Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 210 215 220 Tyr Leu
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe
Asp His Trp Gly Gln Gly 245
250 255 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr 260 265
270 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly 275 280 285 Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
290 295 300 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu 305
310 315 320 Thr Cys Leu Val
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp 325 330 335 Glu Ser Asn Gly Gln
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
Pro Pro Val 340 345 350 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
Val Asp 355 360 365 Lys Ser Arg
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His 370 375 380 Glu Ala Leu His
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
Ser Leu Ser Pro 385 390 395 400 Gly <210> 110 <211> 391 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
IAB22M EH2 гамма 2 (Миниантитело 1) <400> 110 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu

Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Asp Val Gln Ile Thr
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
Arg Thr Ser Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
Lys Val Pro 50 55 60 Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
Ser 65 70 75 80 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr
Cys Gln Gln His Asn 100 105 110
Glu Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser
Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
Gly Leu Val Gln Pro Gly 145 150
155 160 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp 165 170
175 Thr Tyr Ile His Phe Val Arg
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn
Asp Asn Thr Leu Tyr Ala Ser Lys
195 200 205 Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 210
215 220 Tyr Leu Gln Met Asn Ser
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly
Tyr Tyr Val Phe Asp His Trp
Gly Gln Gly 245 250 255 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu
Cys Pro 260 265 270 Pro Cys Pro
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro 275 280 285 Arg Glu Pro Gln
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
Glu Glu Met Thr 290 295 300 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
Tyr Pro Ser 305 310 315 320
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr 325 330 335 Lys
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr 340 345 350 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
Gln Gln Gly Asn Val Phe 355
360 365 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys 370 375
380 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
385 390 <210> 111 <211> 391 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> IAB22M EH2 гамма 2 (Миниантитело 1)(VH-K67R) <400> 111 Met Glu Thr
Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr
Gly Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp
Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr
Ser Arg Ser 35 40 45 Ile Ser Gln Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val
Pro 50 55 60 Lys Leu Leu Ile Tyr
Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 65 70 75 80 Arg Phe Ser Gly Ser Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
100 105 110 Glu Asn Pro Leu Thr
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser Thr Ser Gly Gly Gly
Ser Gly Gly Gly
Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
Gly 145 150 155 160 Gly Ser Leu
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp 165 170 175 Thr Tyr Ile His
Phe Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Asp Asn Thr Leu Tyr
Ala Ser Lys 195 200 205 Phe Gln
Gly Arg Ala Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 210 215 220 Tyr Leu Gln
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Gly Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Val Phe Asp
His Trp Gly Gln Gly 245 250 255
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro 260 265 270 Pro
Cys Pro Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro 275 280 285 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
Ser Arg Glu Glu Met Thr 290 295
300 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser 305 310 315
320 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr 325 330 335 Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
Tyr 340 345 350 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
355 360 365 Ser Cys Ser Val Met
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys 370 375 380 Ser Leu Ser Leu Ser Pro
Gly 385 390 <210> 112 <211>
391 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH1 гамма
1 (Миниантитело 2) <400> 112 Met Glu Thr

15

Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly
Tyr Thr 35 40 45 Phe Thr Glu Tyr
Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile Gly Asn
Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr
Thr Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser
Thr 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala 100 105 110 Val Tyr Tyr Cys Ala
Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr
Trp Gly Gln Gly 115 120 125 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly
Gly Ser Gly 130 135 140 Gly Gly
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser 145 150 155 160 Pro Ser
Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
Arg Val Thr Ile Thr Cys 165 170 175 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp
Trp Tyr Gln Gln Lys 180 185 190
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His 195 200 205 Thr
Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 210 215 220 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
Asp Phe Ala Asp Tyr Phe 225 230
235 240 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys 245 250
255 Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro 260 265 270 Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg
275 280 285 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys 290
295 300 Asn Gln Val Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp 305 310 315 320 Ile Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
Tyr Lys 325 330 335 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
Ser 340 345 350 Lys Leu Thr Val
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser 355 360 365 Cys Ser Val Met His
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
Gln Lys Ser 370 375 380 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 385 390 <210> 113 <211> 393
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH3 гамма 1
(Миниантитело 2) <400> 113 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val
Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser
Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys
Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr 35 40 45 Phe Thr Glu
Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln
Ala Ser Gly Lys Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly
Thr Thr Tyr 65 70 75 80 Asn Gln
Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg
Ser Glu Asp Thr Ala 100 105 110 Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr
Trp Gly Gln Gly 115 120 125
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly 130 135 140 Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser 145 150 155 160 Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys 165
170 175 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys 180 185
190 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His 195 200 205 Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
210 215 220 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe 225
230 235 240 Cys Gln Gln Tyr Asn
Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys 245 250 255 Leu Glu Ile Lys Glu Pro
Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
Cys Pro 260 265 270 Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
Gly 275 280 285 Gln Pro Arg Glu
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu 290 295 300 Met Thr Lys Asn Gln
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
Gly Phe Tyr 305 310 315 320 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
Pro Glu Asn 325 330 335 Asn Tyr
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe 340 345 350 Leu Tyr Ser
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
Trp Gln Gln Gly Asn 355 360 365 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
Asn His Tyr Thr 370 375 380 Gln
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 385 390 <210> 114 <211> 393 <212> PRT <213>

Искусственная последовательность <220> <223>
IAB2M EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 114 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp
Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln
Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr
Ser Gly Tyr Thr 35 40 45 Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly
Lys Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr
65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr 85
90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala 100 105
110 Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 115 120 125
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly 130 135 140 Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser 145 150 155 160 Pro
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys 165 170 175 Lys Ala
Ser Gln Asp Val Gly
Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys 180 185 190 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His
195 200 205 Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 210
215 220 Thr Leu Thr Ile Ser Ser
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe 225 230 235 240 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser
Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
Gly Thr Lys 245 250 255 Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
Cys Pro 260 265 270 Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly
Gly 275 280 285 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
Ser Arg Asp Glu 290 295 300 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
Gly Phe Tyr 305 310 315 320
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn 325 330 335 Asn
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe 340 345 350 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
Arg Trp Gln Gln Gly Asn 355
360 365 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr 370 375
380 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
Pro Gly 385 390 <210> 115 <211> 396 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M
EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 115 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val
Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr
Ser Gly Tyr Thr 35 40 45 Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly
Lys Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Glu
Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val
Asp Lys Ser Thr 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
Thr Ala 100 105 110 Val Tyr Tyr
Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 115 120 125 Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly
Gly Gly Ser Gly 130 135 140 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met
Thr Gln Ser 145 150 155 160 Pro
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys 165 170 175 Lys Ala
Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val
Asp Trp Tyr Gln Gln Lys 180 185 190 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp
Ala Ser Thr Arg His 195 200 205
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 210 215 220 Thr
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe 225 230 235 240 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
245 250 255 Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro 260
265 270 Pro Cys Pro Pro Cys Pro
Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly 275 280 285 Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
Ser 290 295 300 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
305 310 315 320 Gly Phe Tyr
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln 325 330 335 Pro Glu Asn Asn
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
Asp Ser Asp Gly 340 345 350 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
Arg Trp Gln 355 360 365 Gln
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn 370 375 380 His Tyr
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
Pro Gly 385 390 395 <210> 116 <211> 395 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M EH7 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 116 Met

Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr
Ser Gly Tyr Thr 35 40 45 Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly
Lys Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Glu
Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val
Asp Lys Ser Thr 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
Thr Ala 100 105 110 Val Tyr Tyr
Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 115 120 125 Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly
Gly Gly Ser Gly 130 135 140 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met
Thr Gln Ser 145 150 155 160 Pro
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys 165 170 175 Lys Ala
Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val
Asp Trp Tyr Gln Gln Lys 180 185 190 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp
Ala Ser Thr Arg His 195 200 205
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 210 215 220 Thr
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe 225 230 235 240 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
245 250 255 Leu Glu Ile Lys Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr 260
265 270 Cys Pro Pro Cys Pro Pro
Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser 275 280 285 Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
Arg 290 295 300 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
305 310 315 320 Phe Tyr Pro
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 325 330 335 Glu Asn Asn Tyr
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
Ser Asp Gly Ser 340 345 350 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
Trp Gln Gln 355 360 365 Gly
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His 370 375 380 Tyr Thr
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
Gly 385 390 395 <210> 117 <211> 398 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M
EH8 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 117 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val
Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr
Ser Gly Tyr Thr 35 40 45 Phe Thr Glu Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly
Lys Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Glu
Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val
Asp Lys Ser Thr 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
Thr Ala 100 105 110 Val Tyr Tyr
Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 115 120 125 Thr Thr Val Thr
Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly
Gly Gly Ser Gly 130 135 140 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met
Thr Gln Ser 145 150 155 160 Pro
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys 165 170 175 Lys Ala
Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val
Asp Trp Tyr Gln Gln Lys 180 185 190 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp
Ala Ser Thr Arg His 195 200 205
Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe 210 215 220 Thr
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe 225 230 235 240 Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
245 250 255 Leu Glu Ile Lys Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr 260
265 270 Cys Pro Pro Cys Pro Pro
Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly 275 280 285 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
Pro 290 295 300 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
305 310 315 320 Val Lys Gly
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 325 330 335 Gly Gln Pro Glu
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
Val Leu Asp Ser 340 345 350 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
Lys Ser Arg 355 360 365 Trp
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 370 375 380 His Asn

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
Leu Ser Pro Gly 385 390 395 <210> 118 <211> 393 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M EH3 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 118 Met
Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser 20 25 30 Ala Ser
Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
Cys Lys Ala Ser Gln Asp 35 40 45 Val Gly Thr Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
Gly Lys Ala Pro 50 55 60 Lys
Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp 65 70 75 80 Arg Phe
Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
Phe Thr Leu Thr Ile Ser 85 90 95 Ser Leu Gln Pro Glu Asp phe Ala Asp Tyr Phe Cys
Gln Gln Tyr Asn 100 105 110 Ser
Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly 115 120 125 Ser Thr
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Ser Gly Gly Gly Gly Ser 130 135 140 Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
Val Lys Lys Pro Gly 145 150 155
160 Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu 165 170 175
Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln
Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp 180 185 190 Ile Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly
Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys 195
200 205 Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala 210 215
220 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr 225 230 235 240 Cys Ala Ala Gly Trp Asn Phe
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
Thr Val 245 250 255 Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
Pro 260 265 270 Pro Cys Pro Pro
Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly 275 280 285 Gln Pro Arg Glu Pro
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
Arg Glu Glu 290 295 300 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
Phe Tyr 305 310 315 320 Pro
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn 325 330 335 Asn Tyr
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
Ser Asp Gly Ser Phe Phe 340 345 350 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
Trp Gln Gln Gly Asn 355 360
365 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr 370 375 380
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
Gly 385 390 <210> 119 <211> 396 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> IAB20M EH1 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 119 Met Glu Thr Asp Thr
Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr
Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
Gly Tyr Ser 35 40 45 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
Gly 50 55 60 Leu Glu Trp Ile Gly
Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Lys Asp
Arg Val Thr Met Thr Val Asp
Thr Ser Ile 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
Ala 100 105 110 Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp 115 120 125 Tyr Trp Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
Ser Thr Ser 130 135 140 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
Asp Ile 145 150 155 160 Val Met
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg 165 170 175 Ala Thr Leu
Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val
Ser Asn Asp Val Ala 180 185 190 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
Leu Ile Ser Tyr 195 200 205 Thr
Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly 210 215 220 Ser Gly
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
Ser Leu Gln Ala Glu Asp 225 230 235 240 Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr
Asn Ser Pro Pro Thr Phe 245 250
255 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys 260 265 270
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly
Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser 275 280 285 Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 290
295 300 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly 305 310
315 320 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 325 330 335 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
Ser 340 345 350 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

355 360 365 Gly Asn Val Phe Ser
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His 370 375 380 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
Ser Leu Ser Pro Gly Lys 385 390
395 <210> 120 <211> 398 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> IAB20M EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 120 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu
Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Glu Val
Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
35 40 45 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly 50 55
60 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn
Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr
Met Thr Val Asp Thr Ser Ile 85
90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala 100 105
110 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp 115 120 125 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
130 135 140 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile 145
150 155 160 Val Met Thr Gln Ser
Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg 165 170 175 Ala Thr Leu Ser Cys Lys
Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
Val Ala 180 185 190 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser
Tyr 195 200 205 Thr Ser Ser Arg
Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly 210 215 220 Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
Ala Glu Asp 225 230 235 240 Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro
Pro Thr Phe 245 250 255 Gly
Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys 260 265 270 Thr His
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly 275 280 285 Gly Gly Ser
Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro 290 295 300
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 305 310 315 320
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 325 330 335 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser 340
345 350 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 355 360
365 Trp Gln Gln Gly Asn Val
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 370 375 380 His Asn His Tyr Thr Gln Lys
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 385
390 395 <210> 121 <211> 398 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> IAB20M EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 121 Met Glu Thr Asp Thr
Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Gln Val
Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
35 40 45 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly 50 55
60 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn
Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr
Met Thr Val Asp Thr Ser Ile 85
90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala 100 105
110 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp 115 120 125 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
130 135 140 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile 145
150 155 160 Val Met Thr Gln Ser
Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg 165 170 175 Ala Thr Leu Ser Cys Lys
Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
Val Ala 180 185 190 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser
Tyr 195 200 205 Thr Ser Ser Arg
Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly 210 215 220 Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
Ala Glu Asp 225 230 235 240 Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro
Pro Thr Phe 245 250 255 Gly Gln
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys 260 265 270 Thr His Thr
Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly
Gly Gly Ser Ser Gly 275 280 285 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
Tyr Thr Leu Pro 290 295 300 Pro
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 305 310 315 320 Val
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 325 330 335 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
Pro Pro Val Leu Asp Ser 340 345

20

350 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 355 360 365
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 370 375 380 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
Ser Leu Ser Pro Gly 385 390 395
<210> 122 <211> 398 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
IAB20M EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 122 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu
Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Glu Val
Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
35 40 45 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly 50 55
60 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn
Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr
Met Thr Val Asp Thr Ser Ile 85
90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala 100 105
110 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp 115 120 125 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
130 135 140 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile 145
150 155 160 Val Met Thr Gln Ser
Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg 165 170 175 Ala Thr Ile Asn Cys Lys
Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
Val Ala 180 185 190 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser
Tyr 195 200 205 Thr Ser Ser Arg
Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly 210 215 220 Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
Ala Glu Asp 225 230 235 240 Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro
Pro Thr Phe 245 250 255 Gly Gln
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys 260 265 270 Thr His Thr
Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly
Gly Gly Ser Ser Gly 275 280 285 Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
Tyr Thr Leu Pro 290 295 300 Pro
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 305 310 315 320 Val
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 325 330 335 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
Pro Pro Val Leu Asp Ser 340 345
350 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 355 360 365
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 370 375 380 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
Ser Leu Ser Pro Gly 385 390 395
<210> 123 <211> 401 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
IAB20M EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 123 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu
Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Glu Val
Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
35 40 45 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly 50 55
60 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn
Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr 65 70 75 80 Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr
Met Thr Val Asp Thr Ser Ile 85
90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala 100 105
110 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp 115 120 125 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
130 135 140 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile 145
150 155 160 Val Met Thr Gln Ser
Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg 165 170 175 Ala Thr Leu Ser Cys Lys
Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
Val Ala 180 185 190 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser
Tyr 195 200 205 Thr Ser Ser Arg
Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly 210 215 220 Ser Gly Thr Asp Phe
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
Ala Glu Asp 225 230 235 240 Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro
Pro Thr Phe 245 250 255 Gly
Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys 260 265 270 Thr His
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys
Pro Pro Cys Gly Gly Gly 275 280 285 Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg
Glu Pro Gln Val Tyr 290 295 300
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu 305 310 315 320
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

Страница

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp 325 330 335 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
340 345 350 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp 355
360 365 Lys Ser Arg Trp Gln
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His 370 375 380 Glu Ala Leu His Asn His
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
Ser Pro 385 390 395 400 Gly <210> 124 <211> 401 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB20M EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 124 Met
Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys 20 25 30 Lys Pro
Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys
Lys Ala Ser Gly Tyr Ser 35 40 45 Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala
Pro Gly Gln Gly 50 55 60 Leu
Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr 65 70 75 80 Asn Gln
Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met
Thr Val Asp Thr Ser Ile 85 90 95 Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser
Asp Asp Thr Ala 100 105 110 Val
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp 115 120 125 Tyr Trp
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
Ser Ser Gly Ser Thr Ser 130 135 140 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Gly Ser Ser Asp Ile 145 150 155
160 Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg 165 170 175
Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser
Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala 180 185 190 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
Pro Arg Leu Leu Ile Ser Tyr 195
200 205 Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly 210 215
220 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp 225 230 235 240 Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr
Phe 245 250 255 Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
260 265 270 Thr His Thr Cys Pro
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly 275 280 285 Ser Ser Gly Gly Gly Ser
Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
Val Tyr 290 295 300 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
Leu 305 310 315 320 Thr Cys
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp 325 330 335 Glu Ser Asn
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
Thr Thr Pro Pro Val 340 345 350 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
Leu Thr Val Asp 355 360 365 Lys
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His 370 375 380 Glu Ala
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
Ser Leu Ser Leu Ser Pro 385 390 395 400 Gly <210> 125 <211> 387 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220>
<223> IAB1M EH1 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 125 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu
Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp
Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu
Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp Arg
Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser 35 40 45 Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys 50
55 60 Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg 65 70 75
80 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser 85 90 95 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
Cys Gln Gln Trp Gly Ser 100 105
110 Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser 115 120 125
Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser 130 135 140 Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 145
150 155 160 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr 165
170 175 Tyr Ile His Trp Val Arg
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 180 185 190 Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn
Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys
Phe 195 200 205 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
210 215 220 Leu Gln Met Asn
Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 225 230 235 240 Lys Thr Gly Gly
Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
Val Thr Val Ser Ser 245 250 255 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
Pro Cys Gly Gly 260 265 270 Gly
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val 275 280 285 Tyr Thr

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
Thr Lys Asn Gln Val Ser 290 295 300 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
Asp Ile Ala Val Glu 305 310 315
320 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro 325 330 335
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val 340 345 350 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
Val Phe Ser Cys Ser Val Met 355
360 365 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 370 375
380 Pro Gly Lys 385 <210> 126
<211> 389 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH3
гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 126 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu
Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln
Ser Pro Ser Thr Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser
Ala Ser Ser Ser 35 40 45 Val Arg
Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys 50 55 60 Arg Leu Ile Tyr
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
Val Pro Ser Arg 65 70 75 80 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
Ile Ser Ser 85 90 95 Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser 100 105 110 Ser Pro Phe Thr
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
Ile Lys Gly Ser 115 120 125 Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Gly Ser Ser 130 135 140 Glu Val
Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 145 150 155 160 Ser Leu
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
Phe Asn Ile Lys Asp Tyr 165 170 175 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
Gly Leu Glu Trp Val 180 185 190
Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe 195 200 205 Gln
Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp
Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 210 215 220 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 225
230 235 240 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 245
250 255 Glu Pro Lys Ser Ser Asp
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 260 265 270 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg
Glu 275 280 285 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
290 295 300 Gln Val Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile 305 310 315 320 Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
Tyr Lys Thr 325 330 335 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
Ser Lys 340 345 350 Leu Thr Val
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys 355 360 365 Ser Val Met His
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
Gln Lys Ser Leu 370 375 380 Ser Leu Ser Pro Gly 385 <210> 127 <211> 384 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH2 гамма 1
(Миниантитело 1) <400> 127 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu
Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr
Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp
Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser 35 40 45 Val Arg Phe Ile His Trp Tyr
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
Lys 50 55 60 Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg 65
70 75 80 Phe Ser Gly Ser Gly Ser
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser 85 90 95 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser
100 105 110 Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser 115
120 125 Thr Ser Gly Gly Gly Ser
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser 130 135 140 Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
Gly 145 150 155 160 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
Tyr 165 170 175 Tyr Ile His Trp
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 180 185 190 Ala Trp Ile Asp Pro
Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val
Pro Lys Phe 195 200 205 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr
Ala Tyr 210 215 220 Leu Gln
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 225 230 235 240 Lys Thr
Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 245 250 255 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro
Cys Pro Gly Gly Gly Ser 260 265
270 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr 275 280 285

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 290 295 300 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu 305
310 315 320 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu 325
330 335 Asp Ser Asp Gly Ser
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys 340 345 350 Ser Arg Trp Gln Gln Gly
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
His Glu 355 360 365 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
Gly 370 375 380 <210> 128
<211> 392 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH5
гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 128 Met
Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser
Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln
Ser Pro Ser Thr Leu Ser 20 25 30 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser
Ala Ser Ser Ser 35 40 45 Val Arg
Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys 50 55 60 Arg Leu Ile Tyr
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
Val Pro Ser Arg 65 70 75 80 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
Ile Ser Ser 85 90 95 Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Gly Ser 100 105 110 Ser Pro Phe Thr
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
Ile Lys Gly Ser 115 120 125 Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Gly Ser Ser 130 135 140 Glu Val
Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 145 150 155 160 Ser Leu
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
Phe Asn Ile Lys Asp Tyr 165 170 175 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
Gly Leu Glu Trp Val 180 185 190
Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe 195 200 205 Gln
Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp
Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 210 215 220 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 225
230 235 240 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 245
250 255 Glu Pro Lys Ser Ser Asp
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 260 265 270 Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly
Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
Gln 275 280 285 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
290 295 300 Thr Lys Asn Gln Val
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro 305 310 315 320 Ser Asp Ile Ala Val
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
Glu Asn Asn 325 330 335 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
Phe Leu 340 345 350 Tyr Ser Lys
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val 355 360 365 Phe Ser Cys Ser
Val Met His Glu Ala Leu His
Asn His Tyr Thr Gln 370 375 380 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 385 390 <210>
129 <211> 391 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH7 гамма 1 (Миниантитело 1)
<400> 129 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu
Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr
Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser 20 25 30
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser 35 40 45 Val Arg
Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys
Pro Gly Lys Ala Pro Lys 50 55 60 Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
Val Pro Ser Arg 65 70 75 80 Phe
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser 85 90 95 Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
Gln Gln Trp Gly Ser 100 105 110 Ser Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
Ile Lys Gly Ser 115 120 125 Thr
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser 130 135 140 Glu Val
Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly
Leu Val Gln Pro Gly Gly 145 150 155 160 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
Phe Asn Ile Lys Asp Tyr 165 170
175 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 180 185 190
Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly
Asp Thr Glu Phe Val Pro Lys Phe 195 200 205 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp
Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 210
215 220 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 225 230
235 240 Lys Thr Gly Gly Phe
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 245 250 255 Glu Leu Lys Thr Pro Leu

Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
Pro Cys 260 265 270 Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln
Pro 275 280 285 Arg Glu Pro Gln
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr 290 295 300 Lys Asn Gln Val Ser
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
Tyr Pro Ser 305 310 315 320 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
Asn Asn Tyr 325 330 335 Lys Thr
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr 340 345 350 Ser Lys Leu
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
Gln Gly Asn Val Phe 355 360 365 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
Tyr Thr Gln Lys 370 375 380 Ser
Leu Ser Leu Ser Pro Gly 385 390 <210> 130 <211> 394 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH8 гамма 1 (Миниантитело 1)
<400> 130 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10
15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser 20 25 30 Ala Ser
Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
Cys Ser Ala Ser Ser Ser 35 40 45 Val Arg Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
Lys Ala Pro Lys 50 55 60 Arg Leu
Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg 65 70 75 80 Phe Ser Gly
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
Leu Thr Ile Ser Ser 85 90 95 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
Trp Gly Ser 100 105 110 Ser Pro
Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser 115 120 125 Thr Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
Gly Gly Gly Ser Ser 130 135 140 Glu Val Gln Leu Val Glu Tyr Gly Gly Gly Leu Val
Gln Pro Gly Gly 145 150 155 160
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr 165 170 175 Tyr
Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 180 185 190 Ala Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr
Glu Phe Val Pro Lys Phe 195 200
205 Gln Gly Arg Ala Thr Met Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr 210 215 220
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 225 230 235 240 Lys Thr Gly Gly Phe Trp Gly
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
Ser 245 250 255 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
260 265 270 Pro Pro Cys Pro Pro
Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly 275 280 285 Gly Gln Pro Arg Glu Pro
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
Arg Glu 290 295 300 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
Phe 305 310 315 320 Tyr Pro
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu 325 330 335 Asn Asn Tyr
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
Ser Asp Gly Ser Phe 340 345 350 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
Trp Gln Gln Gly 355 360 365
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr 370 375 380 Thr
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
Gly 385 390 <210> 131 <211> 750 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 131 Met Trp
Asn Leu Leu His Glu Thr
Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg 1 5 10 15 Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala
Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe 20 25
30 Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu 35 40 45 Ala
Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn
Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu 50 55 60 Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr
Asn Phe Thr Gln Ile 65 70 75 80
Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile 85 90 95 Gln Ser
Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu
Asp Ser Val Glu Leu Ala His 100 105 110 Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys
Thr His Pro Asn Tyr Ile 115 120
125 Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe 130 135 140
Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu
Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro 145 150 155 160 Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly
Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
165 170 175 Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met 180
185 190 Lys Ile Asn Cys Ser
Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val 195 200 205 Phe Arg Gly Asn Lys Val
Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala
Lys Gly 210 215 220 Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val

Lys 225 230 235 240 Ser Tyr Pro
Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly 245 250 255 Asn Ile Leu Asn
Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro
Leu Thr Pro Gly Tyr 260 265 270 Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala
Glu Ala Val Gly 275 280 285 Leu
Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys 290 295 300 Leu Leu
Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro
Pro Asp Ser Ser Trp Arg 305 310 315 320 Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly
Pro Gly Phe Thr Gly Asn 325 330
335 Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val 340 345 350
Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly
Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro 355 360 365 Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His
Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly 370
375 380 Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg 385 390
395 400 Ser Phe Gly Thr Leu Lys
Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile 405 410 415 Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala
Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser
Thr 420 425 430 Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
435 440 445 Tyr Ile Asn Ala Asp
Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val 450 455 460 Asp Cys Thr Pro Leu Met
Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr
Lys Glu 465 470 475 480 Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr
Glu Ser 485 490 495 Trp Thr Lys
Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile 500 505 510 Ser Lys Leu Gly
Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe
Phe Gln Arg Leu 515 520 525 Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp
Glu Thr Asn 530 535 540 Lys Phe
Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu 545 550 555 560 Leu Val
Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe
Lys Tyr His Leu Thr Val 565 570 575 Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu
Ala Asn Ser Ile Val 580 585 590
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala 595 600 605 Asp
Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys
His Pro Gln Glu Met Lys Thr 610 615 620 Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser
Ala Val Lys Asn Phe Thr 625 630
635 640 Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser 645 650
655 Asn Pro Ile Val Leu Arg Met
Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu 660 665 670 Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly
Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr
Arg 675 680 685 His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
690 695 700 Phe Pro Gly Ile Tyr
Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp 705 710 715 720 Pro Ser Lys Ala Trp
Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr
Val Ala Ala 725 730 735 Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750 <210> 132 <211> 123 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 132 Met Lys
Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Met Ala Gly Leu Ala Leu Gln
1 5 10 15 Pro Gly Thr Ala Leu Leu Cys Tyr Ser Cys Lys Ala Gln Val Ser Asn 20 25
30 Glu Asp Cys Leu Gln Val Glu
Asn Cys Thr Gln Leu Gly Glu Gln Cys 35 40 45 Trp Thr Ala Arg Ile Arg Ala Val Gly
Leu Leu Thr Val Ile Ser Lys 50
55 60 Gly Cys Ser Leu Asn Cys Val Asp Asp Ser Gln Asp Tyr Tyr Val Gly 65 70 75
80 Lys Lys Asn Ile Thr Cys Cys
Asp Thr Asp Leu Cys Asn Ala Ser Gly 85 90 95 Ala His Ala Leu Gln Pro Ala Ala Ala
Ile Leu Ala Leu Leu Pro Ala 100
105 110 Leu Gly Leu Leu Leu Trp Gly Pro Gly Gln Leu 115 120 <210> 133 <211> 420
<212> PRT <213> Homo
sapiens <400> 133 Met Pro Gly Gly Cys Ser Arg Gly Pro Ala Ala Gly Asp Gly Arg
Leu 1 5 10 15 Arg Leu Ala Arg
Leu Ala Leu Val Leu Leu Gly Trp Val Ser Ser Ser 20 25 30 Ser Pro Thr Ser Ser Ala
Ser Ser Phe Ser Ser Ser Ala Pro
Phe Leu 35 40 45 Ala Ser Ala Val Ser Ala Gln Pro Pro Leu Pro Asp Gln Cys Pro Ala
50 55 60 Leu Cys Glu Cys Ser
Glu Ala Ala Arg Thr Val Lys Cys Val Asn Arg 65 70 75 80 Asn Leu Thr Glu Val Pro
Thr Asp Leu Pro Ala Tyr Val
Arg Asn Leu 85 90 95 Phe Leu Thr Gly Asn Gln Leu Ala Val Leu Pro Ala Gly Ala Phe
Ala 100 105 110 Arg Arg Pro
Pro Leu Ala Glu Leu Ala Ala Leu Asn Leu Ser Gly Ser 115 120 125 Arg Leu Asp Glu
Val Arg Ala Gly Ala Phe Glu

His Leu Pro Ser Leu 130 135 140 Arg Gln Leu Asp Leu Ser His Asn Pro Leu Ala Asp
Leu Ser Pro Phe 145 150 155
160 Ala Phe Ser Gly Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Pro Ser Pro Leu Val 165 170 175
Glu Leu Ile Leu Asn His Ile Val
Pro Pro Glu Asp Glu Arg Gln Asn 180 185 190 Arg Ser Phe Glu Gly Met Val Val Ala
Ala Leu Leu Ala Gly Arg Ala
195 200 205 Leu Gln Gly Leu Arg Arg Leu Glu Leu Ala Ser Asn His Phe Leu Tyr 210
215 220 Leu Pro Arg Asp Val
Leu Ala Gln Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asp 225 230 235 240 Leu Ser Asn Asn Ser
Leu Val Ser Leu Thr Tyr Val Ser
Phe Arg Asn 245 250 255 Leu Thr His Leu Glu Ser Leu His Leu Glu Asp Asn Ala Leu
Lys Val 260 265 270 Leu His
Asn Gly Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly Leu Pro His Ile Arg 275 280 285 Val Phe Leu
Asp Asn Asn Pro Trp Val Cys
Asp Cys His Met Ala Asp 290 295 300 Met Val Thr Trp Leu Lys Glu Thr Glu Val Val
Gln Gly Lys Asp Arg 305 310
315 320 Leu Thr Cys Ala Tyr Pro Glu Lys Met Arg Asn Arg Val Leu Leu Glu 325 330
335 Leu Asn Ser Ala Asp Leu
Asp Cys Asp Pro Ile Leu Pro Pro Ser Leu 340 345 350 Gln Thr Ser Tyr Val Phe Leu
Gly Ile Val Leu Ala Leu Ile Gly
Ala 355 360 365 Ile Phe Leu Leu Val Leu Tyr Leu Asn Arg Lys Gly Ile Lys Lys Trp
370 375 380 Met His Asn Ile Arg
Asp Ala Cys Arg Asp His Met Glu Gly Tyr His 385 390 395 400 Tyr Arg Tyr Glu Ile
Asn Ala Asp Pro Arg Leu Thr
Asn Leu Ser Ser 405 410 415 Asn Ser Asp Val 420 <210> 134 <211> 235 <212> PRT
<213> Homo sapiens <400> 134
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu 1 5 10 15 His
Ala Ala Arg Pro Ser Gln Phe Arg
Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr 20 25 30 Trp Asn Leu Gly Glu Thr Val Glu Leu Lys Cys
Gln Val Leu Leu Ser 35 40 45
Asn Pro Thr Ser Gly Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala 50 55 60 Ala Ser
Pro Thr Phe Leu Leu Tyr Leu Ser
Gln Asn Lys Pro Lys Ala 65 70 75 80 Ala Glu Gly Leu Asp Thr Gln Arg Phe Ser Gly
Lys Arg Leu Gly Asp 85 90 95
Thr Phe Val Leu Thr Leu Ser Asp Phe Arg Arg Glu Asn Glu Gly Tyr 100 105 110 Tyr
Phe Cys Ser Ala Leu Ser Asn
Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe 115 120 125 Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg 130
135 140 Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg 145 150
155 160 Pro Glu Ala Cys Arg Pro
Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly 165 170 175 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
Thr 180 185 190 Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His
195 200 205 Arg Asn Arg Arg
Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val Lys Ser 210 215 220 Gly Asp Lys Pro Ser
Leu Ser Ala Arg Tyr Val 225 230
235 <210> 135 <211> 210 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 135 Met Arg Pro Arg
Leu Trp Leu Leu Leu Ala
Ala Gln Leu Thr Val Leu 1 5 10 15 His Gly Asn Ser Val Leu Gln Gln Thr Pro Ala
Tyr Ile Lys Val Gln 20 25 30 Thr
Asn Lys Met Val Met Leu Ser Cys Glu Ala Lys Ile Ser Leu Ser 35 40 45 Asn Met Arg
Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Arg
Gln Ala Pro Ser Ser Asp 50 55 60 Ser His His Glu Phe Leu Ala Leu Trp Asp Ser Ala
Lys Gly Thr Ile 65 70 75 80 His
Gly Glu Glu Val Glu Gln Glu Lys Ile Ala Val Phe Arg Asp Ala 85 90 95 Ser Arg Phe
Ile Leu Asn Leu Thr Ser Val Lys
Pro Glu Asp Ser Gly 100 105 110 Ile Tyr Phe Cys Met Ile Val Gly Ser Pro Glu Leu
Thr Phe Gly Lys 115 120 125 Gly
Thr Gln Leu Ser Val Val Asp Phe Leu Pro Thr Thr Ala Gln Pro 130 135 140 Thr Lys
Lys Ser Thr Leu Lys Lys Arg Val
Cys Arg Leu Pro Arg Pro 145 150 155 160 Glu Thr Gln Lys Gly Pro Leu Cys Ser Pro
Val Thr Leu Gly Leu Leu 165
170 175 Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Met His 180 185
190 Leu Cys Cys Arg Arg Arg
Arg Ala Arg Leu Arg Phe Met Lys Gln Phe 195 200 205 Tyr Lys 210 <210> 136 <211>
171 <212> PRT <213> Homo
sapiens <400> 136 Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu
Leu 1 5 10 15 Ser Gln Val Ser Pro

Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg 20 25 30 Val Phe Val Asn Cys Asn Thr
Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr
Val 35 40 45 Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile 50
55 60 Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr
Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys 65 70 75 80 Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val
His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85 90 95 Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val 100 105
110 Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala
Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His 115 120 125 Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala
Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu
Arg 130 135 140 Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145 150 155 160 Ser His Leu
Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys 165 170 <210> 137 <211> 182 <212> PRT <213> Homo
sapiens <400> 137 Met
Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu 1 5 10 15 Leu Gln
Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys 20 25 30 Val Tyr Asp Tyr
Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala 35 40 45 Glu Ala
Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe 50 55 60 Leu Thr Glu Asp
Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly
Ser Asn Ala Lys Asp 65 70 75 80 Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn
Lys Ser Lys Pro 85 90 95 Leu
Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala 100 105 110 Ala Thr
Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu
Ile Val Ser Ile Phe Val 115 120 125 Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln
Asp Gly Val Arg Gln 130 135 140
Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr 145 150 155 160
Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu
Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly 165 170 175 Asn Gln Leu Arg Arg Asn 180
<210> 138 <211> 207 <212> PRT
<213> Homo sapiens <400> 138 Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys
Leu Leu Ser 1 5 10 15 Val
Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr 20 25 30 Gln Thr Pro
Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr
Thr Val Ile Leu Thr 35 40 45 Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His
Asn Asp Lys 50 55 60 Asn Ile Gly
Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp 65 70 75 80 His Leu Ser Leu
Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln
Ser Gly Tyr Tyr 85 90 95 Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe
Tyr Leu 100 105 110 Tyr Leu
Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met 115 120 125 Ser Val Ala
Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys
Ile Thr Gly Gly Leu 130 135 140 Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys
Ala Lys Ala Lys 145 150 155 160
Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn 165 170 175 Lys
Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro
Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg 180 185 190 Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly
Leu Asn Gln Arg Arg Ile 195 200
205 <210> 139 <211> 164 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 139 Met Lys Trp Lys
Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile
Leu Gln Ala Gln Leu 1 5 10 15 Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp
Pro Lys Leu Cys 20 25 30 Tyr Leu
Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala 35 40 45 Leu Phe Leu Arg
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
Ala Pro Ala Tyr 50 55 60 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
Arg Arg 65 70 75 80 Glu Glu
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met 85 90 95 Gly Gly Lys Pro
Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln
Glu Gly Leu Tyr Asn 100 105 110 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
Glu Ile Gly Met 115 120 125
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly 130 135 140 Leu
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala 145 150 155 160 Leu Pro Pro Arg <210> 140 <211>
1191 <212> ДНК <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB22M EH3 гамма 1 (M1) <400> 140
atggagaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt
gggtgcccgg ctccacaggc 60 gatgtgcaga tcacacagag ccctagcagc ctgagcgcca gcgtgggaga
tagagtcacc 120 atcacatgca
ggaccagcag aagcattagc cagtacctgg cctggtacca gcaaaagccc 180 ggcaaggtgc ccaagctgct

gatctacagc ggctccaccc tgcagagcgg
cgtgcccagc 240 agattctccg gctccggaag cggcacagac tttaccctga ccatctcctc cctgcagccc
300 gaggatgtcg ccacctacta
ctgccagcag cacaacgaaa acccccctgac atttggcggc 360 ggcaccaagg tggagatcaa gggcagcacc
agcggtggag gaagtggagg
tggaagtgga 420 ggaggcggaa gcagcgaggt gcagctggtg gagagtggtg gaggactggt gcagcccgga
480 ggcagcctga gactgagctg
tgctgcctcc ggattcaata tcaaggacac ctacatccac 540 ttcgtgagac aggccccccgg caagggactg
gagtggattg gaaggatcga ccccgccaac
600 gacaacaccc tgtacgccag caaattccag ggcaaggcca caatcagcgc cgacaccagc 660
aagaacaccg cctatctgca gatgaactcc
ctgagagccg aggacacagc cgtgtactac 720 tgcggcaggg gctacggcta ttacgtgttc gaccactggg
gccagggcac cctggtgaca 780
gtgagcagcg aacccaagag ctccgacaag acccacacct gtccccccttg ccctccttgt 840 ggcggaggaa
gctccggagg cggaagcgga ggacagccta
gggagcccca ggtgtatacc 900 ctccccccct ccagggaaga gatgaccaag aaccaggtga gcctgacctg
cctcgtgaag 960 ggcttttatc
cctccgatat cgccgtggag tgggagagca acggccagcc tgagaacaat 1020 tacaagacca
ccccccctgt gctggactcc gatggcagct tcttcctgta
ttccaagctg 1080 accgtcgaca agtccaggtg gcaacagggc aacgtcttca gctgcagcgt
gatgcacgag 1140 gccctgcaca atcactacac
ccagaagtcc ctctccctga gccccggctg a 1191 <210> 141 <211> 1200 <212> ДНК <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
IAB22M EH5 гамма 1 (M1) <400> 141 atggagacag acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt
gggtgcccgg atccaccgga 60
gacgtgcaga tcacacagag ccccagctcc ctgtccgcta gcgtgggcga cagagtgacc 120 atcacctgca
ggaccagcag gagcatctcc cagtacctcg
cttggtacca gcagaagcct 180 ggcaaggtgc ccaagctgct gatttacagc ggatccaccc tgcagagcgg
cgtgcctagc 240 aggtttagcg
gcagcggatc cggaacagac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcct 300 gaagatgtgg ccacctacta
ctgtcagcag cacaacgaaa acccccctcac
cttcggcggc 360 ggcacaaagg tggaaatcaa gggcagcacc tccggaggag gcagcggcgg aggcagcgga
420 ggcggcggct ccagcgaagt
gcagctggtc gagagcggag gcggactggt gcaacccgga 480 ggaagcctga ggctgagctg tgccgccagc
ggcttcaaca tcaaggacac atacattcac
540 tttgtgaggc aggctcctgg aaagggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccccgctaac 600
gacaacaccc tgtacgccag caagttccag
ggcaaggcca ccatctccgc cgacacaagc 660 aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggccg
aggataccgc cgtgtactac 720
tgcggcaggg gctatggcta ctacgtgttt gaccactggg gccagggcac actggtgaca 780 gtgagctccg
agcccaagag ctccgacaag acacacacct
gccctccttg ccccccttgt 840 cctccctgtg gaggaggaag cagcggagga ggaagcggcg gacagcccag
agagcctcaa 900 gtgtataccc
tgccccccctc cagggaagag atgaccaaga accaggtgag cctgacatgc 960 ctggtcaaag gcttctaccc
cagcgatatt gctgtggagt gggagagcaa
cggccagccc 1020 gagaacaact acaagaccac acccccgtc ctggatagcg atggcagctt
cttcctgtac 1080 agcaagctga ccgtggacaa
gtccaggtgg cagcagggca acgtcttctc ctgcagcgtg 1140 atgcacgagg ctctgcataa
ccactacaca cagaagtccc tcagcctgag ccctggatga
1200 <210> 142 <211> 1197 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220>
<223> IAB22M EH7 гамма 1 (Миниантитело
1) <400> 142 atggagacag acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcccgg atccaccgga
60 gacgtgcaga tcacacagag ccccagctcc
ctgtccgcta gcgtgggcga cagagtgacc 120 atcacctgca ggaccagcag gagcatctcc cagtacctcg
cttggtacca gcagaagcct 180 ggcaaggtgc ccaagctgct gatttacagc ggatccaccc tgcagagcgg
cgtgcctagc 240 aggtttagcg gcagcggatc cggaacagac ttcaccctga
ccatcagcag cctgcagcct 300 gaagatgtgg ccacctacta ctgtcagcag cacaacgaaa acccccctcac
cttcggcggc 360 ggcacaaagg
tggaaatcaa gggcagcacc tccggaggag gcagcggcgg aggcagcgga 420 ggcggcggct ccagcgaagt
gcagctggtc gagagcggag
gcggactggt gcaacccgga 480 ggaagcctga ggctgagctg tgccgccagc ggcttcaaca tcaaggacac
atacattcac 540 tttgtgaggc
aggctcctgg aaagggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccccgctaac 600 gacaacaccc tgtacgccag
caagttccag ggcaaggcca ccatctccgc
cgacacaagc 660 aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggccg aggataccgc cgtgtactac
720 tgcggcaggg gctatggcta
ctacgtgttt gaccactggg gccagggcac actggtgaca 780 gtgagctccg agctgaagac acctctgggc
gacacaacac acacctgccc cccttgtcct

840 ccctgtggag gaggaagcag cggaggagga agcggcggac agcccagaga gcctcaagtg 900
tataccctgc ccccctccag ggaagagatg
accaagaacc aggtgagcct gacatgcctg 960 gtcaaaggct tctaccccag cgatattgct gtggagtggg
agagcaacgg ccagcccgag 1020
aacaactaca agaccacacc ccccgtcctg gatagcgatg gcagcttctt cctgtacagc 1080
aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag cagggcaacg
tcttctcctg cagcgtgatg 1140 cacgaggctc tgcataacca ctacacacag aagtccctca
gcctgagccc tggatga 1197 <210> 143 <211>
1206 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB22M EH8
гамма 1(Миниантитело 1) <400> 143
atggagacag acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcccgg atccaccgga 60 gacgtgcaga
tcacacagag ccccagctcc ctgtccgcta
gcgtgggcga cagagtgacc 120 atcacctgca ggaccagcag gagcatctcc cagtacctcg cttggtacca
gcagaagcct 180 ggcaaggtgc
ccaagctgct gatttacagc ggatccaccc tgcagagcgg cgtgcctagc 240 aggtttagcg gcagcggatc
cggaacagac ttcaccctga ccatcagcag
cctgcagcct 300 gaagatgtgg ccacctacta ctgtcagcag cacaacgaaa acccccctcac cttcggcggc
360 ggcacaaagg tggaaatcaa
gggcagcacc tccggaggag gcagcggcgg aggcagcgga 420 ggcggcggct ccagcgaagt gcagctggtc
gagagcggag gcggactggt
gcaacccgga 480 ggaagcctga ggctgagctg tgccgccagc ggcttcaaca tcaaggacac atacattcac
540 tttgtgaggc aggctcctgg
aaagggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccccgctaac 600 gacaacaccc tgtacgccag caagttccag
ggcaaggcca ccatctccgc cgacacaagc
660 aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggccg aggataccgc cgtgtactac 720
tgcggcaggg gctatggcta ctacgtgttt
gaccactggg gccagggcac actggtgaca 780 gtgagctccg agctgaagac acctctgggc gacacaacac
acacctgccc tccttgcccc 840
ccttgtcctc cctgtggagg aggaagcagc ggaggaggaa gcggcggaca gcccagagag 900 cctcaagtgt
ataccctgcc cccctccagg gaagagatga
ccaagaacca ggtgagcctg 960 acatgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gatattgctg tggagtggga
gagcaacggc 1020 cagcccgaga
acaactacaa gaccacaccc cccgtcctgg atagcgatgg cagcttcttc 1080 ctgtacagca
agctgaccgt ggacaagtcc aggtggcagc agggcaacgt
cttctcctgc 1140 agcgtgatgc acgaggctct gcataaccac tacacacaga agtccctcag
cctgagccct 1200 ggatga 1206 <210> 144 <211>
1236 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB22M EH2
гамма 2 (Миниантитело 1) <400> 144
atggaaaccg acacactgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtccctgg ctccaccgga 60 gacgtccaga
tcacacagag ccccagcagc ctgtccgcca
gcgtgggaga cagggtgacc 120 gacgtccaga tcacacagag ccccagcagc ctgtccgcca gcgtgggaga
cagggtgacc 180 gacgtccaga
tcacacagag ccccagcagc ctgtccgcca gcgtgggaga cagggtgacc 240 ggcaaggtcc ccaaactgct
gatctacagc ggctccaccc tgcagtccgg
cgtgcctagc 300 aggttctccg gcagcggatc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagctc cctgcagcct
360 gaggacgtgg ctacctacta
ctgccaacag cacaacgaga acccccctgac ctttggaggc 420 ggcaccaagg tggaaatcaa gggcagcacc
agcggcggag gaagcggagg
aggatccgga 480 ggaggcggaa gctccgaggt gcagctggtg gaaagcggcg gcggactggt gcagcctgga
540 ggaagcctca gactgagctg
tgccgccagc ggattcaaca tcaaagacac ctacattcat 600 ttcgtgagac aggcccccgg caagggcctc
gaatggatcg gaaggatcga ccccgctaac
660 gacaataccc tgtacgcctc caagttccag ggaaaggcca ccatctccgc cgatacctcc 720
aagaacaccg cctacctcca gatgaactcc
ctgagggccg aagataccgc cgtctactac 780 tgtggcaggg gctacggcta ctatgtgttc gatcactggg
gccaaggaac cctggtgacc 840
gtgagcagcg aaaggaagag ctgcgtggag tgtcctcctt gtcccggcgg cggctccagc 900 ggcggaggct
ccggcggcca gcctagagaa cctcaggtgt
acaccctccc cccctccaga 960 gaggagatga ccaagaacca ggtgtccctg acctgcctgg tgaaaggctt
ctatcccagc 1020 gacatcgccg
tggaatggga gtccaacggc cagcccgaga acaactacaa gaccacccct 1080 cccatgctgg
attccgacgg cagcttttttc ctgtacagca agctcaccgt
ggacaagagc 1140 agatggcagc agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggctct
gcataaccac 1200 tacacccaga agagcctgtc
cctgtccccc ggatga 1236 <210> 145 <211> 1176 <212> ДНК <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB22M EH2 гамма 2 (Миниантитело 1) <400> 145
atggagaccg acaccctcct cctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcctgg aagcaccggc 60 gatgtgcaga
tcacccagag ccctagcagc ctgtccgctt ccgtgggcga cagggtgacc 120 atcacctgta ggacctccag

gagcatctcc cagtacctgg cctggtacca
gcagaagccc 180 ggcaaggtgc ccaaactgct catctactcc ggcagcacac tccagagcgg cgtccctagc
240 agattcagcg gaagcggcag
cggcaccgac ttcaccctga ccatcagctc cctgcagccc 300 gaggacgtgg ccacctatta ctgtcagcag
cacaacgaaa acccccctgac cttcggcggc
360 ggcacaaaag tggagatcaa gggcagcacc agcggaggcg gatccggcgg cggcagcggc 420
ggcggaggat ccagcgaagt gcagctggtc
gaaagcggag gcggactggt gcagcctgga 480 ggaagcctga gactcagctg cgccgcctcc ggattcaaca
tcaaggacac ctacatccac 540
ttcgtgaggc aggctcccgg caaaggcctc gagtggattg gaaggattga ccccgccaac 600 gacaacaccc
tgtacgccag caagttccaa ggaagggcca
ccatctccgc cgacaccagc 660 aagaataccg cctacctgca gatgaactcc ctgagggctg aggacaccgc
cgtgtactac 720 tgcggcagag
gctacggcta ctacgtgttc gaccactggg gacagggcac actggtgaca 780 gtgagcagcg agaggaaaag
ctgcgtggag tgcccccccc gccctggcgg
cggcagctcc 840 ggcggaggaa gcggaggaca acccagggag ccccaggtgt acacactccc ccctagcagg
900 gaagagatga ccaagaacca
ggtgtccctg acctgcctcg tgaagggatt ctaccccagc 960 gacattgccg tcgagtggga gagcaacggc
cagcctgaga acaactacaa gacaaccccc
1020 cctatgctcg atagcgatgg ctccttcttc ctgtactcca agctcaccgt cgacaagagc 1080
aggtggcagc agggcaacgt cttctcctgt
agcgtgatgc acgaggctct gcacaaccac 1140 tacacccaga agagcctgag cctgagcccc ggctga
1176 <210> 146 <211> 1182 <212>
ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH3 гамма 1
(Миниантитело 2) <400> 146 atggaaaccg acaccctgctgctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccagg
atctacaggc 60 gaggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgcctc cgtgaagatc
120 tcctgcaaga cctccggcta caccttcacc gagtacacca tccactgggt caagcaggcc 180
tccggcaagg gcctggaatg gatcggcaac
atcaacccca acaacggcgg caccacctac 240 aaccagaagt tcgaggaccg ggccaccctg accgtggaca
agtctacctc caccgcctac 300
atggaactgt cctccctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cgctggctgg 360 aacttcgact
actggggcca gggcaccacc gtgacagtgt
cctctggctc tacctccggc 420 ggaggaagtg gcggaggatc aggcggaggc ggctcctctg atatcgtgat
gacccagtcc 480 ccctccagcc
tgtctgcttc cgtgggcgac agagtgacca tcacatgcaa ggcctcccag 540 gacgtgggca ccgctgtgga
ctggtatcag cagaagcctg gcaaggcccc
caagctgctg 600 atctactggg cctctaccag acacaccggc gtgcccgata gattcaccgg ctctggatcc
660 ggcaccgact ttaccctgac catcagctcc
ctgcagcccg aggacttcgc cgactacttc 720 tgccagcagt acaactccta ccccctgacc tttggcggag
gcaccaagct ggaaatcaaa 780
gagcccaagt cctccgacaa gacccacacc tgtcccccctt gccctccatg tggtggcgga 840 agttctgggg
gaggttctgg tggccagcct cgggaacctc
aggtgtacac actgcccccct 900 agccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg tccctgacct gcctcgtgaa
gggcttctac 960 ccctccgata
tcgccgtgga atgggagtcc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1020 acccccccctg
tgctggactc cgacggctca ttcttcctgt actccaagct
gacagtggat 1080 aagtcccggt ggcagcaggg caacgtgttc tcctgctccg tgatgcacga
ggccctgcac 1140 aaccactata cccagaagtc
cctgtccctg agccccggct ga 1182 <210> 147 <211> 1182 <212> ДНК <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB2M EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 147
atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60 gaagtgcagc
tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaaatt 120 agctgcaaaa ccagcggcta
taccttttacc gaatatacca
ttcattgggt gaaacaggcg 180 agcggcaaag gcctggaatg gattggcaac attaacccga acaacggcgg
caccacctat 240 aaccagaaat
ttgaagatcg cgcgaccctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 300 atggaactga gcagcctgcg
cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc
ggcgggctgg 360 aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcggcag caccagcggc
420 ggcggcagcg gcggcggcag
cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat gacccagagc 480 ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat
cgcgtgacca ttacctgcaa
agcgagccag 540 gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc gaaactgctg
600 atttattggg cgagcacccg
ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 660 ggcaccgatt ttaccctgac cattagcagc
ctgcagccgg aagattttgc ggattatttt 720
tgccagcagt ataacagcta tccgctgacc tttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 780 gaaccgaaaa
gcagcgataa aacccatacc tgcccgccgt
gcccgccgtg cggcggcggc 840 agcagcggcg gcggcagcgg cggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac

cctgccgccg 900 agccgcgatg
aactgaccaa aaaccaggtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat 960 ccgagcgata ttgcggtgga
atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa
ctataaaacc 1020 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact
gaccgtggat 1080 aaaagccgct ggcagcaggg
caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 1140 aaccattata cccagaaaag
cctgagcctg agcccgggct ga 1182 <210> 148
<211> 1191 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M
EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 148 atggaaaccg atacctgct gctgtgggtg
ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60 gaagtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac
cgggcgcgag cgtgaaaatt 120 agctgcaaaa ccagcggcta tacctttacc gaatatacca ttcattgggt
gaaacaggcg 180 agcggcaaag
gcctggaatg gattggcaac attaacccga acaacggcgg caccacctat 240 aaccagaaat ttgaagatcg
cgcgaccctg accgtggata aaagcaccag
caccgcgtat 300 atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg
360 aactttgatt attggggcca
gggcaccacc gtgaccgtga gcagcggcag caccagcggc 420 ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc
ggcagcagcg atattgtgat
gacccagagc 480 ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat cgcgtgacca ttacctgcaa agcgagccag
540 gatgtgggca ccgcggtgga
ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc gaaactgctg 600 atttattggg cgagcacccg ccataccggc
gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc
660 ggcaccgatt ttaccctgac cattagcagc ctgcagccgg aagattttgc ggattatttt 720
tgccagcagt ataacagcta tccgctgacc tttggcggcg
gcaccaaact ggaaattaaa 780 gaaccgaaaa gcagcgataa aacccatacc tgcccgccgt gcccgccgtg
cccgccgtgc 840 ggcggcggca
gcagcggcgg cggcagcggc ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 900 ctgccgccga gccgcgaaga
aatgaccaaa aaccaggtga
gcctgacctg cctggtgaaa 960 ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc
ggaaaacaac 1020 tataaaacca
ccccgccggt gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaaactg 1080 accgtggata
aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt
gatgcatgaa 1140 gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggctg a 1191
<210> 149 <211> 1188 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH7 гамма 1
(Миниантитело 2) <400> 149 atggagacag acaccctcct
cctgtgggtg ctgctgctgt gggtccccgg aagcaccgga 60 gaagtgcagc tggtgcaatc cggagccgag
gtgaagaaac ccggcgccag cgtgaagatt
120 agctgcaaaa ccagcggcta caccttcacc gagtacacca tccactgggt caagcaggcc 180
agcggcaagg gcctggagtg gatcggcaac
attaacccca ataacggcgg caccacctac 240 aatcagaaat tcgaggacag ggccaccctg accgtggata
agtccacctc caccgcctac 300
atggagctgt cctccctgag aagcgaggat acagccgtct actactgcgc tgccggatgg 360 aatttcgact
actggggcca gggcacaacc gtgaccgtga
gcagcggatc cacctccggc 420 ggcggcagcg gaggcggcag cggcggagga ggcagcagcg acatcgtgat
gacacagtcc 480 cccagcagcc
tgtccgctag cgtgggcgac agagtgacca tcacctgcaa ggcctcccag 540 gacgtgggaa ccgctgtgga
ctggtaccag cagaagcccg gcaaggcccc
caagctgctg 600 atctactggg ccagcaccag acacaccggc gtgcctgaca gattcaccgg ctccggaagc
660 ggcaccgact tcaccctgac
catcagctcc ctccagcccg aggacttcgc cgactacttc 720 tgccagcagt ataatagcta ccccctgacc
ttcggcggcg gcacaaagct cgaaatcaag
780 gagctgaaga cccctctggg agacaccacc cacacctgcc ccccttgccc tccctgtgga 840
ggcggaagca gcggaggagg aagcggagga
cagcccaggg aaccccaggt gtacacactg 900 ccccccctcca gagaggagat gacaaagaac caggtgtccc
tcacctgcct ggtgaaaggc 960
ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccaacccga aaacaactac 1020
aagaccaccc ctcccgtgct ggattccgac ggctcctttt
tcctgtacag caagctgacc 1080 gtggacaagt ccaggtggca gcagggcaat gtctttagct
gcagcgtcat gcacgaggcc 1140 ctgcataacc
actataccca gaagtccctg tccctcagcc ctggatga 1188 <210> 150 <211> 1197 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность <220><223> IAB2M EH8 гамма 1
(Миниантитело 2) <400> 150 atggaaaccg atacctgct gctgtgggtg ctgctgctgt
gggtgccggg cagcaccggc 60 gaagtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag
cgtgaaaatt 120 agctgcaaaa ccagcggcta
taccttacc gaatatacca ttcattgggt gaaacaggcg 180 agcggcaaag gcctggaatg gattggcaac
attaacccga acaacggcgg caccacctat
240 aaccagaaat ttgaagatcg cgcgaccctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 300

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat
accgcggtgt attattgcgc ggcgggctgg 360 aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga
gcagcggcag caccagcggc 420
ggcggcagcg gcggcggcag cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat gacccagagc 480 ccgagcagcc
tgagcgcgag cgtgggcgat
cgcgtgacca ttacctgcaa agcgagccag 540 gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg
gcaaagcgcc gaaactgctg 600
atttattggg cgagcacccg ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 660 ggcaccgatt
ttaccctgac cattagcagc ctgcagccgg
aagattttgc ggattatttt 720 tgccagcagt ataacagcta tccgctgacc tttggcggcg gcaccaaact
ggaaattaaa 780 gaactgaaaa ccccgctggg
cgataccacc catacctgcc cgccgtgccc gccgtgcccg 840 ccgtgcggcg gcggcagcag cggcggcggc
agcggcggcc agccgcgcga
accgcaggtg 900 tataccctgc cgccgagccg cgaagaaatg accaaaaacc aggtgagcct gacctgcctg
960 gtgaaaggct tttatccgag
cgatattgcg gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa 1020 aacaactata aaaccacccc
gccggtgctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc
1080 aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag cagggcaacg tgtttagctg cagcgtgatg 1140
catgaagcgc tgcataacca ttatacccag
aaaagcctga gcctgagccc gggctga 1197 <210> 151 <211> 1182 <212> ДНК <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
IAB2M EH3 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 151 atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg
ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
gatattgtga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 120 attacctgca
aagcgagcca ggatgtgggc accgcggtgg
attggtatca gcagaaaccg 180 ggcaaagcgc cgaaactgct gatttattgg gcgagcaccc gccataccgg
cgtgccggat 240 cgctttaccg
gcagcggcag cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctgcagccg 300 gaagattttg cggattattt
ttgccagcag tataacagct atccgctgac
ctttggcggc 360 ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc
420 ggcggcggca gcagcgaagt
gcagctggtg cagagcggcg cggaagtgaa aaaaccgggc 480 gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc
ggctatacct ttaccgaata taccattcat
540 tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 600
ggcggcacca cctataacca gaaatttgaa
gatcgcgcga ccctgaccgt ggataaaagc 660 accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg
aagataccgc ggtgtattat 720
tgcgcggcgg gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 780 gaaccgaaaa
gcagcgataa aacccatacc tgcccgccgt
gcccgccgtg cggcggcggc 840 agcagcggcg gcggcagcgg cggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac
cctgccgccg 900 agccgcgaag
aaatgaccaa aaaccaggtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat 960 ccgagcgata ttgcggtgga
atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa
ctataaaacc 1020 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact
gaccgtggat 1080 aaaagccgct ggcagcaggg
caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 1140 aaccattata cccagaaaag
cctgagcctg agcccgggct ga 1182 <210> 152
<211> 1197 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB20M
EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 152
atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcctgg cagcacagga 60 gaggtgcagc
tggtggagag cggcgctgaa gtgaagaagc
ccggcgccag cgtgaaggtg 120 agctgcaagg ccagcggcta cagcttcaca ggctactaca tgcactgggt
gagacaagcc 180 cctggccagg
gcctcgagtg gattggaagg atcaacccca acaacggagt gacactgtac 240 aaccagaaat tcaaggacag
ggtcaccatg accgtggaca ccagcatcag
caccgcctat 300 atggagctgt ccaggctgag gagcgacgac accgctgtgt actactgcgc caggagcacc
360 atgatcacca actacgtgat
ggattattgg ggccagggca cactggtgac agtgagcagc 420 ggcagcacca gcggaggagg cagcggagga
ggaagcggcg gaggcggctc
ctccgatatc 480 gtcatgaccc agagccccgc taccctcagc gtgtcccctg gcgagagagc caccctgagc
540 tgcaaggcca gccagtccgt
gtccaacgac gtggcctggt atcaacagaa gcccggccag 600 gctcctaggc tgctgatctc ctacaccagc
agcaggtacg ccggcgtgcc tgataggttc
660 agcggctccg gcagcggcac agacttcacc ctgacaatca gcagcctgga ggccgaggat 720
gaggccgtgt actactgtca gcaggactac
aactcccccc ccaccttcgg ccagggcaca 780 aaggtcgaga tcaaggagcc caagtcctcc gacaagaccc
acacctgtcc cccctgccct 840
ccttgtggag gcggaagcag cggaggcggg agcggaggac agcccagaga accccaggtg 900 tataccctgc

ccccctccag ggaggagatg
accaaaaacc aggtgagcct gacatgcctg 960 gtgaagggct tctacccctc cgacatcgcc gtggagtggg
aaagcaacgg ccagcccgag 1020
aacaactaca agaccacacc ccccgtgctg gatagcgacg gctccttctt tctgtacagc 1080
aagctgaccg tggataaaag caggtggcag caaggcaacg
tgttctcctg ctccgtcatg 1140 cacgaggctc tgcataacca ctacacccaa aaatccctga
gcctgagccc cggctga 1197 <210> 153 <211>
1197 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB20M EH3
гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 153
atggaaaccg atacctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60 caggtgcagc
tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac
cgggcgcgag cgtgaaagtg 120 agctgcaaag cgagcggcta tagctttacc ggctattata tgcattgggt
gcgccaggcg 180 ccgggccagg
gcctggaatg gattggccgc attaacccga acaacggcgt gaccctgtat 240 aaccagaaat ttaaagatcg
cgtgaccatg accgtggata ccagcattag
caccgcgtat 300 atggaactga gccgcctgcg cagcgatgat accgcggtgt attattgcgc gcgcagcacc
360 atgattacca actatgtgat ggattattgg
ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 420 ggcagcacca gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg
gcggcggcag cagcgatatt 480
gtgatgaccc agagcccggc gaccctgagc gtgagcccgg gcgaacgcgc gaccctgagc 540 tgcaaagcga
gccagagcgt gagcaacgat
gtggcgtggt atcagcagaa accgggccag 600 gcgccgcgcc tgctgattag ctataccagc agccgctatg
cgggcgtgcc ggatcgcttt 660
agcggcagcg gcagcggcac cgattttacc ctgaccatta gcagcctgca ggcggaagat 720 gtggcggtgt
attattgcca gcaggattat aacagcccgc
cgacctttgg ccagggcacc 780 aaagtggaaa ttaaagaacc gaaaagcagc gataaaaccc atacctgccc
gccgtgcccg 840 ccgtgcggcg
gcggcagcag cggcggcggc agcggcggcc agccgcgcga accgcaggtg 900 tataccctgc cgccgagccg
cgaagaaatg accaaaaacc
aggtgagcct gacctgcctg 960 gtgaaaggct tttatccgag cgatattgcg gtggaatggg aaagcaacgg
ccagccggaa 1020 aacaactata
aaaccacccc gccggtgctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc 1080 aaactgaccg
tggataaaag ccgctggcag cagggcaacg tgtttagctg
cagcgtgatg 1140 catgaagcgc tgcataacca ttatacccag aaaagcctga gcctgagccc gggctga
1197 <210> 154 <211> 1197 <212>
ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB20M EH3 гамма 1
(Миниантитело 2) <400> 154 atggaaaccg ataccctgct
gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcctgg cagcacagga 60 gaggtgcagc tggtggagag cggcgctgaa
gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg
120 agctgcaagg ccagcggcta cagcttcaca ggctactaca tgcactgggt gagacaagcc 180
cctggccagg gcctcgagtg gattggaagg
atcaacccca acaacggagt gacactgtac 240 aaccagaaat tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca
ccagcatcag caccgcctat 300
atggagctgt ccaggctgag gagcgacgac accgctgtgt actactgcgc caggagcacc 360 atgatcacca
actacgtgat ggattattgg ggccagggca
cactggtgac agtgagcagc 420 ggcagcacca gcggaggagg cagcggagga ggaagcggcg gaggcggctc
ctccgatatc 480 gtcatgaccc
agagccccga tagcctggcc gtgagcctgg gcgagagagc caccatcaat 540 tgcaaggcca gccagtccgt
gtccaacgac gtggcctggt atcaacagaa
gcccggccag 600 gctcctaggc tgctgatctc ctacaccagc agcaggtacg ccggcgtgcc tgataggttc
660 agcggctccg gcagcggcac
agacttcacc ctgacaatca gcagcctgca agccgaagat 720 gtggccgtgt actactgtca gcaggactac
aactcccccc ccaccttcgg ccagggcaca
780 aaggtcgaga tcaaggagcc caagtcctcc gacaagaccc acacctgtcc cccctgccct 840
ccttgtggag gcggaagcag cggaggcggg
agcggaggac agcccagaga accccaggtg 900 tataccctgc ccccctccag ggaggagatg accaaaaacc
aggtgagcct gacatgcctg 960
gtgaagggct tctacccctc cgacatcgcc gtggagtggg aaagcaacgg ccagcccgag 1020
aacaactaca agaccacacc ccccgtgctg
gatagcgacg gctccttctt tctgtacagc 1080 aagctgaccg tggataaaag caggtggcag
caaggcaacg tgttctcctg ctccgtcatg 1140
cacgaggctc tgcataacca ctacacccaa aaatccctga gcctgagccc cggctga 1197 <210> 155
<211> 1206 <212> ДНК <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB20M EH5 гамма 1 (Миниантитело 2)
<400> 155 atggagacag acaccctcct cctgtgggtc
ctgctcctgt gggtgcccgg atccacaggc 60 gaggtccagc tggtggaatc cggagccgag gtgaagaaac
ccggcgcctc cgtgaaagtc 120
tcctgcaagg cctccggcta ctccttcacc ggctactaca tgcactgggt gaggcaggcc 180 cctggacagg

gactggaatg gatcggcagg attaacccca
acaacggagt gaccctgtac 240 aaccagaagt tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca ccagcatttc
caccgcctac 300 atggagctgt
ccaggctgag aagcgacgac accgctgtgt actactgcgc caggagcacc 360 atgatcacca actacgtgat
ggattattgg ggccagggca ccctcgtgac
agtgagcagc 420 ggatccacaa gcggaggcgg aagcggaggc ggcagcggcg gcggcggcag cagcgatatc
480 gtgatgaccc agagccccgc
caccctgagc gtgagccccg gcgaaagggc cacactgagc 540 tgcaaggcca gccagtccgt ctccaacgat
gtggcctggt accagcagaa gcccggacag
600 gcccctaggc tcctgatctc ctacaccagc tccaggtacg ccggcgtccc tgacagattc 660
tccggcagcg gcagcggcac cgatttcacc
ctcaccatca gcagcctgga agccgaagat 720 gaagctgtgt attactgcca gcaggactac aacagccccc
ccacatttgg ccagggaacc 780
aaggtggaga tcaaggagcc caagagcagc gacaagaccc atacctgccc tccttgccct 840 ccttgtcctc
cctgtggagg cggaagctcc ggaggaggat
ccggaggcca gcctagagag 900 ccccaggtgt acaccctgcc ccctagcagg gaggagatga ccaagaacca
ggtgagcctg 960 acatgtctgg
tcaagggctt ttaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc 1020 cagcctgaga
acaactacaa gaccacccct cctgtgctgg actccgacgg
cagctttttc 1080 ctgtacagca agctgaccgt ggataagagc aggtggcagc agggcaacgt
cttcagctgc 1140 agcgtgatgc acgaggctct
gcataaccac tacacccaga agagcctgag cctgagccct 1200 ggatga 1206 <210> 156 <211>
1206 <212> ДНК <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB20M EH5 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 156
atggagacag acaccctcct cctgtgggtc ctgctcctgt
gggtgcccgg atccacaggc 60 gaggtccagc tggtggaatc cggagccgag gtgaagaaac ccggcgcctc
cgtgaaagtc 120 tcctgcaagg
cctccggcta ctccttcacc ggctactaca tgcactgggt gaggcaggcc 180 cctggacagg gactggaatg
gatcggcagg attaacccca acaacggagt
gaccctgtac 240 aaccagaagt tcaaggacag ggtcaccatg accgtggaca ccagcatttc caccgcctac
300 atggagctgt ccaggctgag
aagcgacgac accgctgtgt actactgcgc caggagcacc 360 atgatcacca actacgtgat ggattattgg
ggccagggca ccctcgtgac agtgagcagc
420 ggatccacaa gcggaggcgg aagcggaggc ggcagcggcg gcggcggcag cagcgatatc 480
gtgatgaccc agagccccga ttccctcgcc
gtgagcctgg gcgaaagggc cacaatcaac 540 tgcaaggcca gccagtccgt ctccaacgat gtggcctggt
accagcagaa gcccggacag 600
gcccctaggc tcctgatctc ctacaccagc tccaggtacg ccggcgtccc tgacagattc 660 tccggcagcg
gcagcggcac cgatttcacc ctcaccatca
gcagcctgca ggccgaggac 720 gtggctgtgt attactgcca gcaggactac aacagccccc ccacatttgg
ccagggaacc 780 aaggtggaga
tcaaggagcc caagagcagc gacaagaccc atacctgccc tccttgccct 840 ccttgtcctc cctgtggagg
cggaagctcc ggaggaggat ccggaggcca
gcctagagag 900 ccccaggtgt acaccctgcc ccctagcagg gaggagatga ccaagaacca ggtgagcctg
960 acatgtctgg tcaagggctt
ttaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaacggc 1020 cagcctgaga acaactacaa
gaccacccct cctgtgctgg actccgacgg cagctttttc
1080 ctgtacagca agctgaccgt ggataagagc aggtggcagc agggcaacgt cttcagctgc 1140
agcgtgatgc acgaggctct gcataaccac
tacacccaga agagcctgag cctgagccct 1200 ggatga 1206 <210> 157 <211> 1170 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH3 гамма 1
(Миниантитело 1) <400> 157 atggagaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt
gggtgcctgg
cagcaccggc 60 gacattcagc tgacccagtc cccttccaca ctgagcgcct ccgtgggcga cagggtcaca
120 attacatgtt ccgcctccag cagcgtcagg
tttatccact ggtatcagca gaagcccggc 180 aaggccccca agagactgat ctacgacaca agcaagctgg
cctccggagt gcccagcaga 240
ttcagcggca gcggatccgg caccgatttc acactgacca tcagcagcct gcagcccgaa 300 gacttcgcca
cctactactg ccagcagtgg ggctcctccc
ccttcacctt cggacagggc 360 accaaggtgg agatcaaggg ctccacaagc ggcggcggaa gcggcggcgg
cagcggcggc 420 ggcggctcca
gcgaagtgca gctggtggag tacggcggcg gactggtcca gcctggagga 480 agcctgaggc tgagctgcgc
cgcctccggc tttaacatca aagattacta
cattcactgg 540 gtcagacagg cccctggcaa aggcctggag tgggtggcct ggatcgatcc cgagaacgga
600 gacaccgagt tcgtgcccaa
gttccaggga agagccacca tgagcgccga caccagcaag 660 aacaccgcct acctgcagat gaattccctc
agggccgagg ataccgctgt gtactactgc
720 aagaccggcg gattttgggg ccagggaacc ctggtgaccg tcagctccga gcctaagagc 780

35

agcgataaga cccacacctg ccctccttgc
ccccccttgtg gcggaggatc ctccggagga 840 ggatccggag gacagcccag ggagcctcag gtgtacaccc
tccctcccag cagggaggag 900
atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc ctcgtcaagg gcttctaccc cagcgacatc 960 gctgtggagt
gggagagcaa cggccagccc gaaaacaactacaagaccac ccctcccgtg 1020 ctggacagcg acggcagctt
cttcctctac tccaagctga cagtggacaa gagcaggtgg 1080 cagcagggca
acgtgttcag ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa tcactatacc 1140 cagaagtccc
tgtccctctc ccccggctag 1170 <210> 158 <211>
1155 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH2
гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 158 atggagaccg
ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcctgg cagcaccggc 60 gacattcagc tgacccagtc
cccttccaca ctgagcgcct ccgtgggcga
cagggtcaca 120 attacatgtt ccgcctccag cagcgtcagg tttatccact ggtatcagca gaagcccggc
180 aaggccccca agagactgat
ctacgacaca agcaagctgg cctccggagt gcccagcaga 240 ttcagcggca gcggatccgg caccgatttc
acactgacca tcagcagcct gcagcccgaa
300 gacttcgcca cctactactg ccagcagtgg ggctcctccc ccttcacctt cggacagggc 360
accaaggtgg agatcaaggg ctccacaagc
ggcggcggaa gcggcggcgg cagcggcggc 420 ggcggctcca gcgaagtgca gctggtggag tacggcggcg
gactggtcca gcctggagga 480
agcctgaggc tgagctgcgc cgcctccggc tttaacatca aagattacta cattcactgg 540 gtcagacagg
cccctggcaa aggcctggag tgggtggcct
ggatcgatcc cgagaacgga 600 gacaccgagt tcgtgcccaa gttccaggga agagccacca tgagcgccga
caccagcaag 660 aacaccgcct
acctgcagat gaattccctc agggccgagg ataccgctgt gtactactgc 720 aagaccggcg gattttgggg
ccagggaacc ctggtgaccg tcagctccga
gagaaagagc 780 tgcgtggagt gtcctccttg tcccggcgga ggatcctccg gaggaggatc cggaggacag
840 cccagggagc ctcaggtgta
caccctccct cccagcaggg aggagatgac caagaaccag 900 gtgtccctga cctgcctcgt caagggcttc
taccccagcg acatcgctgt ggagtgggag
960 agcaacggcc agcccgaaaa caactacaag accacccctc ccatgctgga cagcgacggc 1020
agcttcttcc tctactccaa gctgacagtg
gacaagagca ggtggcagca gggcaacgtg 1080 ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg
cacaatcact atacccagaa gtccctgtcc 1140
ctctcccccg gctag 1155 <210> 159 <211> 1179 <212> ДНК <213> Искусственная
последовательность <220> <223> IAB1M EH5 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 159
atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60 gatattcagc
tgacccagag cccgagcacc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 120 attacctgca gcgcgagcag
cagcgtgcgc tttattcatt ggtatcagca
gaaaccgggc 180 aaagcgccga aacgcctgat ttatgatacc agcaaactgg cgagcggcgt gccgagccgc
240 tttagcggca gcggcagcgg
caccgatttt accctgacca ttagcagcct gcagccggaa 300 gattttgcga cctattattg ccagcagtgg
ggcagcagcc cgtttacctt tggccagggc 360
accaaagtgg aaattaaagg cagcaccagc ggcggcggca gcggcggcgg cagcggcggc 420 ggcggcagca
gcgaagtgca gctggtggaa
tatggcggcg gcctggtgca gccgggcggc 480 agcctgcgcc tgagctgcgc ggcgagcggc tttaacatta
aagattatta tattcattgg 540
gtgcgccagg cgccgggcaa aggcctggaa tgggtggcgt ggattgatcc ggaaaacggc 600 gataccgaat
ttgtgccgaa atttcagggc cgcgcgacca
tgagcgcgga taccagcaaa 660 aacaccgcgt atctgcagat gaacagcctg cgcgcggaag ataccgcggt
gtattattgc 720 aaaaccggcg
gcttttgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagcagcga accgaaaagc 780 agcgataaaa cccatacctg
cccgccgtgc ccgccgtgcc cgccgtgcgg
cggcggcagc 840 agcggcggcg gcagcggcgg ccagccgcgc gaaccgcagg tgtataccct gccgccgagc
900 cgcgaagaaa tgaccaaaaa
ccaggtgagc ctgacctgcc tggtgaaagg cttttatccg 960 agcgatattg cggtggaatg ggaaagcaac
ggccagccgg aaaacaacta taaaaccacc
1020 ccgccggtgc tggatagcga tggcagcttt tttctgtata gcaaactgac cgtggataaa 1080
agccgctggc agcagggcaa cgtgtttagc
tgcagcgtga tgcatgaagc gctgcataac 1140 cattataccc agaaaagcct gagcctgagc ccgggctga
1179 <210> 160 <211> 1176
<212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH7 гамма 1
(Миниантитело 1) <400> 160 atggaaaccg
ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60 gatattcagc tgacccagag
cccgagcacc ctgagcgcga gcgtgggcga
tcgcgtgacc 120 attacctgca gcgcgagcag cagcgtgcgc tttattcatt ggtatcagca gaaaccgggc
180 aaagcgccga aacgcctgat ttatgatacc
agcaaactgg cgagcggcgt gccgagccgc 240 tttagcggca gcggcagcgg caccgatttt accctgacca

ttagcagcct gcagccggaa 300
gattttgcga cctattattg ccagcagtgg ggcagcagcc cgtttacctt tggccagggc 360 accaaagtgg
aaattaaagg cagcaccagc ggcggcggca
gcggcggcgg cagcggcggc 420 ggcggcagca gcgaagtgca gctggtggaa tatggcggcg gcctggtgca
gccgggcggc 480 agcctgcgcc
tgagctgcgc ggcgagcggc tttaacatta aagattatta tattcattgg 540 gtgcgccagg cgccgggcaa
aggcctggaa tgggtggcgt ggattgatcc
ggaaaacggc 600 gataccgaat ttgtgccgaa atttcagggc cgcgcgacca tgagcgcgga taccagcaaa
660 aacaccgcgt atctgcagat
gaacagcctg cgcgcggaag ataccgcggt gtattattgc 720 aaaaccggcg gcttttgggg ccagggcacc
ctggtgaccg tgagcagcga actgaaaacc
780 ccgctgggcg ataccaccca tacctgcccg ccgtgcccgc cgtgcggcgg cggcagcagc 840
ggcggcggca gcggcggcca gccgcgcgaa
ccgcaggtgt ataccctgcc gccgagccgc 900 gaagaaatga ccaaaaacca ggtgagcctg acctgcctgg
tgaaaggctt ttatccgagc 960
gatattgcgg tggaatggga aagcaacggc cagccggaaa acaactataa aaccaccccg 1020
ccggtgctgg atagcgatgg cagcttttt ctgtatagca
aactgaccgt ggataaaagc 1080 cgctggcagc agggcaacgt gtttagctgc agcgtgatgc
atgaagcgct gcataaccat 1140 tatacccaga
aaagcctgag cctgagcccg ggctga 1176 <210> 161 <211> 1185 <212> ДНК <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB1M EH8 гамма 1 (Миниантитело 1)
<400> 161 atggaaaccg ataccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgccggg cagcaccggc 60
gatattcagc tgacccagag cccgagcacc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 120 attacctgca
gcgcgagcag cagcgtgcgc tttattcatt
ggtatcagca gaaaccgggc 180 aaagcgccga aacgcctgat ttatgatacc agcaaactgg cgagcggcgt
gccgagccgc 240 tttagcggca
gcggcagcgg caccgatttt accctgacca ttagcagcct gcagccggaa 300 gattttgcga cctattattg
ccagcagtgg ggcagcagcc cgtttacctt
tggccagggc 360 accaaagtgg aaattaaagg cagcaccagc ggcggcggca gcggcggcgg cagcggcggc
420 ggcggcagca gcgaagtgca
gctggtggaa tatggcggcg gcctggtgca gccgggcggc 480 agcctgcgcc tgagctgcgc ggcgagcggc
tttaacatta aagattatta tattcattgg
540 gtgcgccagg cgccgggcaa aggcctggaa tgggtggcgt ggattgatcc ggaaaacggc 600
gataccgaat ttgtgccgaa atttcagggc
cgcgcgacca tgagcgcgga taccagcaaa 660 aacaccgcgt atctgcagat gaacagcctg cgcgcggaag
ataccgcggt gtattattgc 720
aaaaccggcg gcttttgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagcagcga actgaaaacc 780 ccgctgggcg
ataccaccca tacctgcccg ccgtgcccgc
cgtgcccgcc gtgcggcggc 840 ggcagcagcg gcggcggcag cggcggccag ccgcgcgaac cgcaggtgta
taccctgccg 900 ccgagccgcg
aagaaatgac caaaaaccag gtgagcctga cctgcctggt gaaaggcttt 960 tatccgagcg atattgcggt
ggaatgggaa agcaacggcc agccggaaaacaactataaa 1020 accacccccgc cggtgctgga tagcgatggc
agcttttttc tgtatagcaa actgaccgtg 1080 gataaaagcc gctggcagca
gggcaacgtg tttagctgca gcgtgatgca tgaagcgctg 1140 cataaccatt atacccagaa
aagcctgagc ctgagcccgg gctga 1185 <210> 162
<211> 1119 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M
EH3 гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 162
gatattgtga tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 60 attacctgca
agcgagcca ggatgtgggc accgcggtgg
attggtatca gcagaaaccg 120 ggcaaagcgc cgaaactgct gatttattgg gcgagcaccc gccataccgg
cgtgccggat 180 cgctttaccg
gcagcggcag cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctgcagccg 240 gaagattttg cggattattt
ttgccagcag tataacagct atccgctgac
ctttggcggc 300 ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc
360 ggcggcggca gcagcgaagt
gcagctggtg cagagcggcg cggaagtgaa aaaaccgggc 420 gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc
ggctatacct ttaccgaata taccattcat
480 tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 540
ggcggcacca cctataacca gaaatttgaa
gatcgcgcga ccctgaccgt ggataaaagc 600 accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg
aagataccgc ggtgtattat 660
tgcgcggcgg gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 720 gaaccgaaaa
gcagcgataa aacccatacc tgcccgccgt
gcccgccgtg cggcggcggc 780 agcagcggcg gcggcagcgg cggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac
cctgccgccg 840 agccgcgaag
aaatgaccaa aaaccaggtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat 900 ccgagcgata ttgcggtgga
atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa
ctataaaacc 960 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat

1020 aaaagccgct ggcagcaggg
caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 1080 aaccattata cccagaaaag
cctgagcctg agcccgggc 1119 <210> 163 <211>
1128 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH5
гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 163 gatattgtga
tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 60 attacctgca aagcgagcca
ggatgtgggc accgcggtgg attggtatca
gcagaaaccg 120 ggcaaagcgc cgaaactgct gatttattgg gcgagcaccc gccataccgg cgtgccggat
180 cgctttaccg gcagcggcag
cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctgcagccg 240 gaagattttg cggattattt ttgccagcag
tataacagct atccgctgac ctttggcggc 300
ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 360 ggcggcggca
gcagcgaagt gcagctggtg
cagagcggcg cggaagtgaa aaaaccgggc 420 gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc ggctatacct
ttaccgaata taccattcat 480
tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 540 ggcggcacca
cctataacca gaaatttgaa gatcgcgcga
ccctgaccgt ggataaaagc 600 accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg aagataccgc
ggtgtattat 660 tgcgcggcgg
gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 720 gaaccgaaaa gcagcgataa
aacccatacc tgcccgccgt gcccgccgtg
cccgccgtgc 780 ggcggcggca gcagcggcgg cggcagcggc ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc
840 ctgccgccga gccgcgaaga
aatgaccaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa 900 ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac
960 tataaaacca ccccgccggt gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaaactg 1020
accgtggata aaagccgctg gcagcagggc
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa 1080 gcgctgcata accattatac ccagaaaagc
ctgagcctga gcccgggc 1128 <210> 164 <211>
1134 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M EH8
гамма 1 (Миниантитело 1) <400> 164 gatattgtga
tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 60 attacctgca aagcgagcca
ggatgtgggc accgcggtgg attggtatca
gcagaaaccg 120 ggcaaagcgc cgaaactgct gatttattgg gcgagcaccc gccataccgg cgtgccggat
180 cgctttaccg gcagcggcag
cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctgcagccg 240 gaagattttg cggattattt ttgccagcag
tataacagct atccgctgac ctttggcggc 300
ggcaccaaac tggaaattaa aggcagcacc agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 360 ggcggcggca
gcagcgaagt gcagctggtg
cagagcggcg cggaagtgaa aaaaccgggc 420 gcgagcgtga aaattagctg caaaaccagc ggctatacct
ttaccgaata taccattcat 480
tgggtgaaac aggcgagcgg caaaggcctg gaatggattg gcaacattaa cccgaacaac 540 ggcggcacca
cctataacca gaaatttgaa gatcgcgcga
ccctgaccgt ggataaaagc 600 accagcaccg cgtatatgga actgagcagc ctgcgcagcg aagataccgc
ggtgtattat 660 tgcgcggcgg
gctggaactt tgattattgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc 720 gaactgaaaa ccccgctggg
cgataccacc catacctgcc cgccgtgccc
gccgtgcccg 780 ccgtgcggcg gcggcagcag cggcggcggc agcggcggcc agccgcgcga accgcaggtg
840 tataccctgc cgccgagccg
cgaagaaatg accaaaaacc aggtgagcct gacctgcctg 900 gtgaaaggct tttatccgag cgatattgcg
gtggaatggg aaagcaacgg ccagccggaa
960 aacaactata aaaccacccc gccggtgctg gatagcgatg gcagcttttt tctgtatagc 1020
aaactgaccg tggataaaag ccgctggcag
cagggcaacg tgtttagctg cagcgtgatg 1080 catgaagcgc tgcataacca ttatacccag
aaaagcctga gcctgagccc gggc 1134 <210> 165
<211> 1119 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB2M
EH3 гамма 1 (Миниантитело 2) <400> 165
gaagtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaaatt 60 agctgcaaaa
ccagcggcta tacctttacc gaatatacca
ttcattgggt gaaacaggcg 120 agcggcaaag gcctggaatg gattggcaac attaacccga acaacggcgg
caccacctat 180 aaccagaaat
ttgaagatcg cgcgaccctg accgtggata aaagcaccag caccgcgtat 240 atggaactga gcagcctgcg
cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc
ggcgggctgg 300 aactttgatt attggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcggcag caccagcggc
360 ggcggcagcg gcggcggcag
cggcggcggc ggcagcagcg atattgtgat gacccagagc 420 ccgagcagcc tgagcgcgag cgtgggcgat
cgcgtgacca ttacctgcaa
agcgagccag 480 gatgtgggca ccgcggtgga ttggtatcag cagaaaccgg gcaaagcgcc gaaactgctg

540 atttattggg cgagcacccg
ccataccggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 600 ggcaccgatt ttaccctgac cattagcagc
ctgcagccgg aagattttgc ggattatttt 660
tgccagcagt ataacagcta tccgctgacc tttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 720 gaaccgaaaa
gcagcgataa aacccatacc tgcccgccgt
gcccgccgtg cggcggcggc 780 agcagcggcg gcggcagcgg cggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac
cctgccgccg 840 agccgcgaag
aaatgaccaa aaaccaggtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat 900 ccgagcgata ttgcggtgga
atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa
ctataaaacc 960 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat
1020 aaaagccgct ggcagcaggg
caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 1080 aaccattata cccagaaaag
cctgagcctg agcccgggc 1119 <210> 166 <211> 8
<212> PRT <213> Homo sapiens <400> 166 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro Cys 1 5 <210>
167 <211> 12 <212> PRT
<213> Homo sapiens <400> 167 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro 1 5
10 <210> 168 <211> 17 <212>
PRT <213> Homo sapiens <400> 168 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
Pro Cys Pro Pro 1 5 10 15 Cys
<210> 169 <211> 20 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 169 Glu Pro Lys Ser Ser
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
Pro Cys Val Glu 1 5 10 15 Cys Pro Pro Cys 20 <210> 170 <211> 20 <212> PRT <213>
Homo sapiens <400> 170 Glu
Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Pro 1 5 10 15 Cys Pro
Pro Cys 20 <210> 171 <211> 9
<212> PRT <213> Homo sapiens <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT
<222> 2, 3, 5, 6, 8, 9 <223>
Xaa = P, V или E <400> 171 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5 <210> 172
<211> 6 <212> PRT <213> Homo
sapiens <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 5, 6 <223> Xaa = P, V или E <400> 172
Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5
<210> 173 <211> 12 <212> PRT <213> Homo sapiens <220> <221> VARIANT <222> 2, 3,
5, 6, 8, 9, 11, 12 <223>
Xaa = P, V или E <400> 173 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5
10 <210> 174 <211> 7 <212>
PRT <213> Homo sapiens <400> 174 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr 1 5 <210> 175 <211>
6 <212> PRT <213> Homo
sapiens <400> 175 Asn Pro Ser Arg Gly Tyr 1 5 <210> 176 <211> 10 <212> PRT <213>
Homo sapiens <400> 176 Tyr
Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr 1 5 10 <210> 177 <211> 10 <212> PRT <213>
Homo sapiens <400> 177 Ser
Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn 1 5 10 <210> 178 <211> 9 <212> PRT <213>
Homo sapiens <400> 178 Gln Gln
Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr 1 5 <210> 179 <211> 742 <212> PRT <213> Homo sapiens
<400> 179 Glu Val Gln Leu
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 1 5 10 15 Ser Val Lys Ile Ser
Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
Glu Tyr 20 25 30 Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45 Gly Asn Ile Asn Pro Asn
Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe 50 55 60 Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val
Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala
Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95 Ala Ala Gly Trp Asn Phe
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr 100 105 110 Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
Gly 115 120 125 Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
130 135 140 Ser Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln 145 150 155 160 Asp Val Gly Thr Ala
Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
Gly Lys Ala 165 170 175 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly
Val Pro 180 185 190 Asp Arg Phe
Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 195 200 205 Ser Ser Leu Gln
Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe
Cys Gln Gln Tyr 210 215 220 Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
Glu Ile Lys 225 230 235 240 Glu
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly 245 250 255 Gly Ser
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln
Pro Arg Glu Pro Gln Val 260 265 270 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

Lys Asn Gln Val Ser 275 280 285
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu 290 295 300 Trp
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro 305 310 315 320 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val 325
330 335 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met 340 345
350 His Glu Ala Leu His Asn His
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 355 360 365 Pro Gly Lys Glu Val Gln Leu Val
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
370 375 380 Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe 385
390 395 400 Thr Glu Tyr Thr Ile
His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu 405 410 415 Glu Trp Ile Gly Asn Ile
Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr
Tyr Asn 420 425 430 Gln Lys Phe Glu Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr
Ser 435 440 445 Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val 450 455 460 Tyr Tyr Cys Ala
Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr
Trp Gly Gln Gly Thr 465 470 475 480 Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly 485 490 495
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro 500 505 510 Ser
Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys 515 520 525 Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro 530 535
540 Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr 545 550 555
560 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr 565 570 575 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys
580 585 590 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu 595
600 605 Glu Ile Lys Glu Pro Lys
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro 610 615 620 Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg
Glu 625 630 635 640 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
Asn 645 650 655 Gln Val Ser Leu
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile 660 665 670 Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
Tyr Lys Thr 675 680 685 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
Ser Lys 690 695 700 Leu Thr Val
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys 705 710 715 720 Ser Val Met
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
Thr Gln Lys Ser Leu 725 730 735 Ser Leu Ser Pro Gly Lys 740 <210> 180 <211> 738
<212> PRT <213> Homo
sapiens <400> 180 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
Ala 1 5 10 15 Ser Val Lys Ile Ser
Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr 20 25 30 Thr Ile His Trp Val Lys Gln
Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp
Ile 35 40 45 Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe 50
55 60 Glu Asp Arg Ala Thr Leu
Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg
Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
Cys 85 90 95 Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr 100
105 110 Val Ser Ser Gly Ser Thr
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly 115 120 125 Gly Gly Ser Ser Asp Ile
Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
Leu 130 135 140 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln
145 150 155 160 Asp Val Gly Thr
Ala Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala 165 170 175 Pro Lys Leu Leu Ile
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
Gly Val Pro 180 185 190 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
Thr Ile 195 200 205 Ser Ser Leu
Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr 210 215 220 Asn Ser Tyr Pro
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
Lys Leu Glu Ile Lys 225 230 235 240 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
Pro Gly Gly Gly Ser 245 250 255
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr 260 265 270 Leu
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 275 280 285 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
Ile Ala Val Glu Trp Glu 290 295
300 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu 305 310 315

40

320 Asp Ser Asp Gly Ser Phe
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys 325 330 335 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
Glu 340 345 350 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360 365 Lys Glu Val Gln Leu
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly 370 375 380 Ala Ser Val Lys Ile Ser
Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe
Thr Glu 385 390 395 400 Tyr Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu
Glu Trp 405 410 415 Ile Gly Asn
Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys 420 425 430 Phe Glu Asp Arg
Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys
Ser Thr Ser Thr Ala 435 440 445 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
Ala Val Tyr Tyr 450 455 460 Cys
Ala Ala Gly Trp Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val 465 470 475 480 Thr
Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser 485 490 495 Gly Gly Gly Gly Ser Ser Asp Ile Val Met
Thr Gln Ser Pro Ser Ser 500 505
510 Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser 515 520 525
Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Asp
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys 530 535 540 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala
Ser Thr Arg His Thr Gly Val 545
550 555 560 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr 565
570 575 Ile Ser Ser Leu Gln Pro
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln 580 585 590 Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
Glu Ile 595 600 605 Lys Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly
Gly 610 615 620 Ser Ser Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr 625 630 635 640 Thr Leu Pro Pro
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
Gln Val Ser Leu 645 650 655 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
Val Glu Trp 660 665 670 Glu Ser
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met 675 680 685 Leu Asp Ser
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
Ser Lys Leu Thr Val Asp 690 695 700 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
Cys Ser Val Met His 705 710 715
720 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro 725 730 735
Gly Lys <210> 181 <211> 106
<212> PRT <213> Homo sapiens <400> 181 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
Leu Pro Pro Ser Arg Glu 1 5 10
15 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe 20 25 30 Tyr
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu 35 40 45 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
Ser Asp Gly Ser Phe 50 55 60
Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly 65 70 75 80 Asn
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
Glu Ala Leu His Asn His Tyr 85 90 95 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 100
105 <210> 182 <211> 106 <212>
PRT <213> Homo sapiens <400> 182 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
Pro Ser Arg Glu 1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe 20 25 30 Tyr Pro
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu 35 40 45 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
Asp Gly Ser Phe 50 55 60 Phe
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly 65 70 75 80 Asn Val
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
Ala Leu His Asn His Tyr 85 90 95 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly 100 105
<210> 183 <211> 6 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> C5 образует дисульфидную
связь с C27 из SEQ ID 184; C5 образует дисульфидную связь с C34 из SEQ ID 185
<400> 183 Val Thr Ile Thr Cys Lys 1 5 <210> 184 <211> 42 <212> PRT <213>
Искусственная
последовательность <220> <223> C27 образует дисульфидную связь с C5 из SEQ ID
183 <400> 184 Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser 1 5 10 15 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp
Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser 20
25 30 Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys 35 40 <210> 185 <211> 49 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> C34 образует дисульфидную
связь с C5 из SEQ ID 183 <400> 185 His Thr Gly Val Pro Asp Arg phe Thr

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp 1 5 10 15 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Asp Tyr 20 25 30
Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr 35 40 45 Lys <210> 186 <211> 21 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> C4 образует дисульфидную связь с C4 из SEQ ID 186; C7 образует дисульфидную связь с C7 из SEQ ID 186
<400> 186 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15 Gly
Gly Gln Pro Arg 20 <210> 187 <211> 4 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> C2 образует дисульфидную связь с C7 из SEQ ID 188
<400> 187 Ser Cys Asp Lys 1 <210> 188 <211> 10 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> C7 образует дисульфидную связь с C2 из SEQ ID 187; C7 образует дисульфидную связь с C9 из SEQ ID 189; C7 образует дисульфидную связь с C11 из SEQ ID 190; Алкилирование C7 <400> 188 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
Leu Val Lys 1 5 10 <210> 189 <211> 23 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> C9 образует дисульфидную связь с C7 из SEQ ID 188; Алкилирование C9 <400> 189 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
Ala Leu 1 5 10 15 His Asn His Tyr Thr Gln Lys 20 <210> 190 <211> 25 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220>
<223> C11 образует дисульфидную связь с C7 из SEQ ID 188 <400> 190 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu 1 5 10 15 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys 20 25 <210> 191 <211> 8 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой аминокислотой <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400>
191 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 192 <211> 8 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223>
Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa не представляет собой цистеин <220> <221> VARIANT <222> 3 <223>
Xaa = любая из: A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220>
<221> VARIANT <222> 4, 6, 7
<223> Xaa = любая аминокислота <400> 192 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5
<210> 193 <211> 8 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = идна из A, R, N, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота
<400> 193 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 194 <211> 8 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220>
<223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220>
<221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = P, V или E <220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7
<223> Xaa = любая аминокислота <400> 194 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5
<210> 195 <211> 8 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = P или V
<220> <221>
VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 195 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 196 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1
<223>
Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = P, V или E <400> 196
Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 197 <211> 8 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221>
VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221>
VARIANT <222> 4, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6

<223> Xaa = P или V <400> 197 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 198
<211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная
область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не
образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3
<223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V
<220> <221> VARIANT <222> 4 <223> P или E <220> <221> VARIANT <222> 6, 7 <223>
Xaa = любая аминокислота <400> 198 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 199
<211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная
область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не
образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3
<223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V
<220> <221> VARIANT <222> 4, 6 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221>
VARIANT <222> 7 <223> Xaa = P или E <400> 199 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1
5 <210> 200 <211> 8
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область
<220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует
ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa =
любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221>
VARIANT <222> 4 <223> Xaa = P или E <220>
<221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 200 Xaa Cys Xaa
Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 201 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1
<223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной
перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4
<223> Xaa = VE <220> <221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота
<400> 201 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 202 <211> 8 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной
перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4 <223> Xaa = PP <220>
<221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 202 Xaa Cys Xaa
Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 203 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223>
Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота,
которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT
<222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W,
Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221>
VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = VE <400> 203 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5
<210> 204 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота,
которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT
<222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W,
Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221>
VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = PP <400> 204 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5
<210> 205 <211> 8 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220>
<221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует
ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4 <223> Xaa
= VE <220>
<221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = PP <400> 205 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa
Cys 1 5 <210> 206 <211> 8
<212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область
<220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует
ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4 <223> Xaa
= PP <220> <221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = PP или VE <400> 206 Xaa Cys Xaa
Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 207 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1
<223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной
перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4 <223> Xaa = VE <220>
<221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = VE или PP <400> 207 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
Xaa Cys 1 5 <210> 208 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> Миниантитело <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая
аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с
другой идентичной аминокислотой <220> <221> VARIANT <222> 2-6, 8-9, 11-12 <223>
Xaa = любая аминокислота <400> 208 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
Xaa Cys 1 5 10 <210> 209 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1
<223> Xaa = серин, треонин или аланин <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa =
любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221>

VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 209 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 210 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = серин <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 210 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 211 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = аланин <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221>
VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400>
211 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 212 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221>
VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 212 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 213 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот и не представляет собой цистеин <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 213 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 214 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2 <223> Xaa = не цистеин <220> <221> VARIANT <222> 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 214 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 215 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2 <223> Xaa = D <220> <221> VARIANT <222> 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 215 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 216 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = K <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 216 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 217 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223>Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 4 <223> Xaa = T <220> <221> VARIANT<222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 217 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 218 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220>
<221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220>
<221> VARIANT <222> 5 <223> Xaa = H <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 218 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 219 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220>
<221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = T <400> 219 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5
10 <210> 220 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 8 <223> Xaa = P или V <400> 220 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 221 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 9 <223> Xaa = P или E <400> 221 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 222 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 11 <223> Xaa = P или V <400> 222 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 223 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220>
<221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 12 <223> Xaa = P или E <400> 223 Xaa Xaa
Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 224 <211> 17 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 16 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 5 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа
<220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любой остаток аминокислоты, отличный от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 10 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 224 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5 10 15 Cys <210> 225 <211> 17 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 2, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 16 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221>
VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любые аминокислоты, отличные от аминокислоты в положении 2 <220> <221> VARIANT <222> 5 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 10 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 225 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5 10 15 Cys <210> 226 <211> 16 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 15 <223> Xaa = любая аминокислота <220>
<221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 226 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 15 <210> 227 <211> 16 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220>
<221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220>
<221> VARIANT <222> 14 <223> Xaa = P или V <220> <221> VARIANT <222> 15 <223> Xaa = P или E <400> 227 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 15 <210> 228 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = серин <220> <221> VARIANT
<222> 2 <223> Xaa = D <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = K <220> <221> VARIANT <222> 4, 6
<223> Xaa = T <220> <221> VARIANT <222> 5 <223> Xaa = H <220> <221> VARIANT <222> (7)...(10) <223>
Xaa = P <400> 228 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 229 <211> 8 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> Центральная шарнирная область миниантитела <220> <221> VARIANT <222> 1 <223>
Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 229 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1

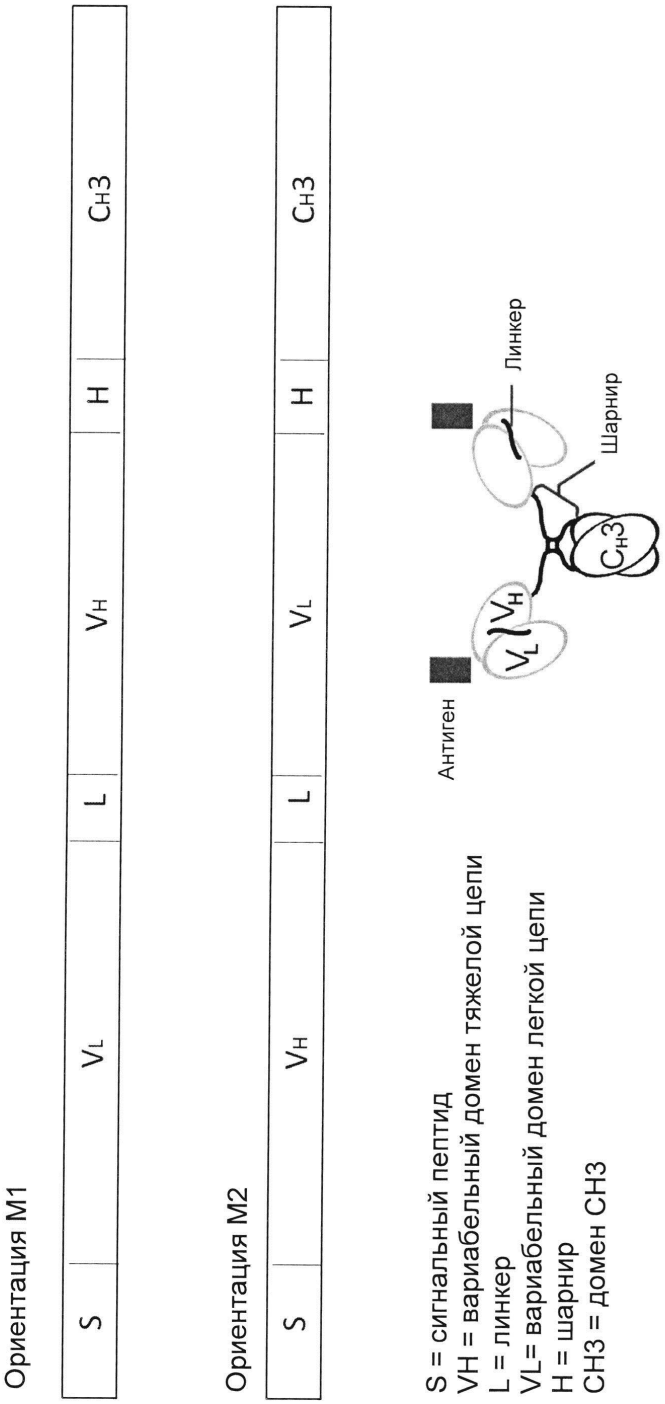
45

5 <210> 230 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Центральная шарнирная область миниантитела <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa - = серин <220> <221>
VARIANT <222> 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 230 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210>
231 <211> 1167 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223>
IAB25M NH гамма 2 (M1) <400> 231
atggaaaccg acaccctgct gctgtgggtg ctgctgctct gggtcccagg ctccaccggt 60 gaaattgtgt
tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt
ctccagggga aagagccacc 120 ctctcctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggtaccaaca
gaaacctggc 180 caggctccca
ggctcctcat ctatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcac 240 ttcaggggca gtgggtctgg
gacagacttc actctcacca tcagcagcct
agagcctgaa 300 gattttgcag tttattactg tcagcagtgg agtagtaacc cattcacgtt cggccaaggg
360 accaaggtgg aaatcaaagg ctccacatcc
ggcggaggct ctggcggtgg atctggcgga 420 ggcggctcat cccaggtgca gctggtgcag tctggggctg
aggtgaagaa gcctggggcc 480
tcagtgaagg tctcctgcaa ggcttctgga tacaccttca ccaggtacac gatgcactgg 540 gtgcgacagg
cccctggaca agggcttgag tggatgggat
acattaatcc tagccgtggt 600 tatactaatt acaatcagaa gttcaaggac agggtcacca tgaccacaga
cacgtccatc 660 agcacagcct acatggagct
gagcaggctg agatctgacg acacggccgt gtattactgt 720 gcgagatatt atgatgatca ttactcactt
gactactggg gccagggcac cctggtcacc 780
gtctcctcag agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gcccagcacc acctgtggca 840 ggaccggggc
agccccgaga accacaggtg tacaccctgc
ccccatcccg ggaggagatg 900 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag
cgacatcgcc 960 gtggagtggg
agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccatgctg 1020 gactccgacg
gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag
caggtggcag 1080 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca
ctacacgcag 1140 aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
1167 <210> 232 <211> 389 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> IAB25M NH гамма 2 (M1) <400>
232 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Glu Ile Val Leu
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser 20 25 30 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser
Cys Ser Ala Ser Ser Ser 35 40 45
Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg 50 55 60 Leu Leu
Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala
Ser Gly Val Pro Ala His 65 70 75 80 Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
Leu Thr Ile Ser Ser 85 90 95 Leu
Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser 100 105 110 Asn Pro
Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
Val Glu Ile Lys Gly Ser 115 120 125 Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
Gly Gly Gly Ser Ser 130 135 140
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 145 150 155 160
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr 165 170 175 Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 180
185 190 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe 195 200
205 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr
Thr Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 210 215 220 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser
Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
225 230 235 240 Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255 Thr Leu Val Thr
Val Ser Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro 260 265 270 Pro Cys Pro Ala Pro
Pro Val Ala Gly Pro Gly Gln Pro
Arg Glu Pro 275 280 285 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
Asn Gln 290 295 300 Val Ser Leu
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala 305 310 315 320 Val Glu Trp
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
Asn Tyr Lys Thr Thr 325 330 335 Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
Tyr Ser Lys Leu 340 345 350
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser 355 360 365 Val
Met His Glu Ala Leu His Asn His
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser 370 375 380 Leu Ser Pro Gly Lys 385 <210> 233 <211>
1176 <212> ДНК <213>
Искусственная последовательность <220> <223> IAB25M EH гамма 2 (M1) <400> 233

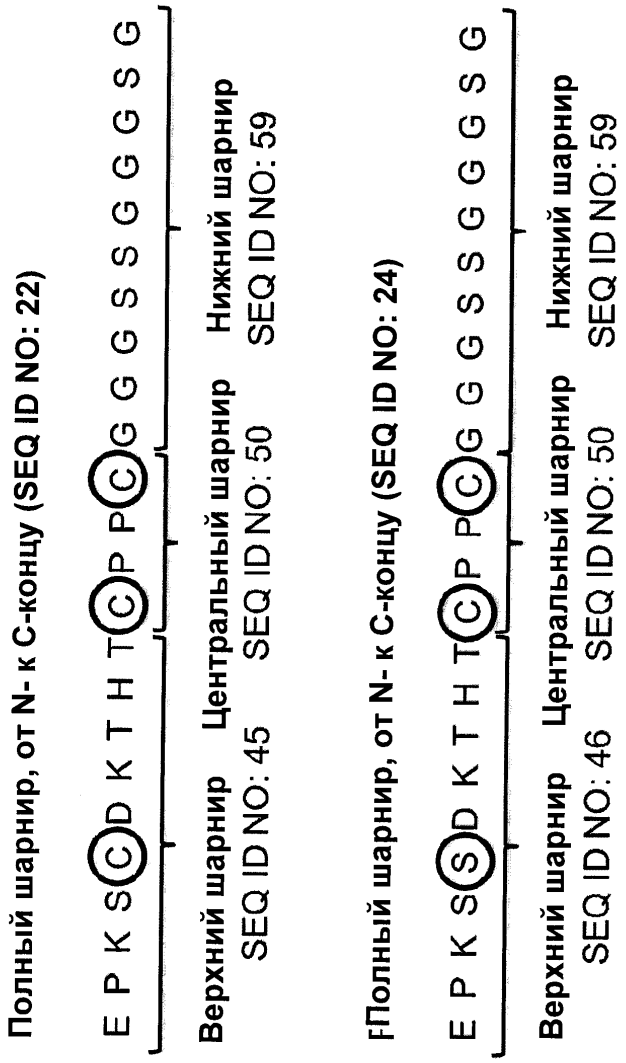
atggagaccg acaccctcct cctgtgggtc ctgctgctgt
gggtgcctgg aagcaccggc 60 gagattgtgc tgacccagtc ccctgccacc ctgagcctgt cccctggaga
aagagccaca 120 ctgagctgtt ccgcctcctc
cagcgtgagc tacatgaact ggtaccagca gaagcccgga 180 caggctccca ggctgctcat ctacgacaca
agcaagctgg ctagcggcgt gcccgctcat
240 ttcagaggca gcggaagcgg cacagatttt accctgacca tttcctccct ggagcctgag 300
gacttcgccg tgtattactg ccagcagtgg agctccaacc
ccttcacatt cggccagggc 360 accaaggtgg aaatcaaggg atccacaagc ggaggcggca gcggcggcgg
cagcggaggc 420 ggaggcagca
gccaggtgca actggtgcag agcggagccg aggtgaagaa gcccggagcc 480 agcgtgaagg tgtcctgcaa
agcctccgga tacaccttca ccaggtacac
aatgcactgg 540 gtgaggcagg ctcccggcca gggcctggag tggatgggat acatcaaccc cagcaggggc
600 tacaccaact ataaccagaa
gttcaaggac agggtgacca tgaccaccga caccagcatt 660 tccaccgctt atatggagct cagcagactg
aggtccgacg acaccgccgt gtactactgc
720 gccaggtatt acgacgacca ctacagcctg gactactggg gccagggaac actcgtgacc 780
gtgtccagcg agaggaagtg ctgcgtggaa
tgtccccctt gtcctggagg cggaagctcc 840 ggaggaggat ccggcggaca gcccagggaa cctcaggtgt
acaccctgcc ccccagcagg 900
gaggagatga caaagaacca ggtgagcctg acctgtctgg tgaagggctt ctaccccagc 960 gacatcgccg
tggagtggga gagcaacggc cagcctgaga
acaactacaa gacaaccccc 1020 cctatgctgg atagcgacgg cagcttcttc ctgtactcca
agctcaccgt ggataagagc 1080 aggtggcagc
agggaaacgt ctttagctgt tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1140 tacacccaga
agagcctctc cctgtccccc ggcaag 1176 <210> 234
<211> 392 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> IAB25M EH гамма 2 (M1) <400> 234 Met Glu Thr
Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro 1 5 10 15 Gly Ser Thr Gly
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
Thr Leu Ser 20 25 30 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser
Ser 35 40 45 Val Ser Tyr Met Asn
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg 50 55 60 Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser
Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala
His 65 70 75 80 Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
85 90 95 Leu Glu Pro Glu Asp Phe
Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser 100 105 110 Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
Ser 115 120 125 Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
130 135 140 Gln Val Gln Leu Val
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 145 150 155 160 Ser Val Lys Val Ser
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
Thr Arg Tyr 165 170 175 Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
Trp Met 180 185 190 Gly Tyr Ile
Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe 195 200 205 Lys Asp Arg Val
Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Ile
Ser Thr Ala Tyr 210 215 220 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
Tyr Tyr Cys 225 230 235 240
Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly 245 250 255 Thr
Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Arg
Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro 260 265 270 Pro Cys Pro Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gln Pro 275 280
285 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr 290 295 300
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser 305 310 315 320 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
325 330 335 Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr 340
345 350 Ser Lys Leu Thr Val
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe 355 360 365 Ser Cys Ser Val Met His
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
Gln Lys 370 375 380 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 385 390 <210> 235 <211> 8
<212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1
<223> Xaa = серин или аланин <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A,
R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT
<222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 235 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
Xaa Cys 1 5 <210> 236 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность
<220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = T <220>
<221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M,

F, P, S, T, W, Y или V <220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 236 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 237 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220>
<221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V <220>
<221> VARIANT <222> 4, 7 <223> Xaa = P или E <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 237 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 238 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4 <223> Xaa = VE или PP <220> <221> VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 238 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 239 <211> 8 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3, 4 <223> Xaa = VE <220> <221>
VARIANT <222> 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 239 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 240 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223>
Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи с другой аминокислотой <220> <221>
VARIANT <222> 2-6, 8-9, 11-12 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 240 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 241 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1-5, 8-9, 11-12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 241 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 242 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = серин или аланин <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 242 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 243 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2 <223> Xaa = D <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = K <220> <221> VARIANT <222> 4, 6 <223> Xaa = T <220> <221> VARIANT <222> 8, 11 <223> Xaa = P или V <220> <221> VARIANT <222> (5)...(5) <223> Xaa = H <220> <221> VARIANT <222> (9)...(9) <223> Xaa = P или E <220> <221> VARIANT <222> (12)...(12) <223> Xaa = любая аминокислота <400> 243 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 244 <211> 11 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота, которая не образует ковалентной перекрестно-сшивающей связи <220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = любая из A, R, N, D, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y или V
<220> <221> VARIANT <222> 4, 6, 7, 9, 10 <223> Xaa = любая аминокислота <400> 244 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa
Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 245 <211> 16 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область
<220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 15 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <400> 245 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys
Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 15 <210> 246 <211> 16 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любые m аминокислот, где m представляет собой любое количество аминокислот любого типа <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 6 <223> Xaa = любая аминокислота, отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 14 <223> Xaa = P или V
<220> <221> VARIANT <222> 15 <223> Xaa = P или E <400> 246 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 15 <210> 247 <211> 13 <212> PRT <213> Искусственная

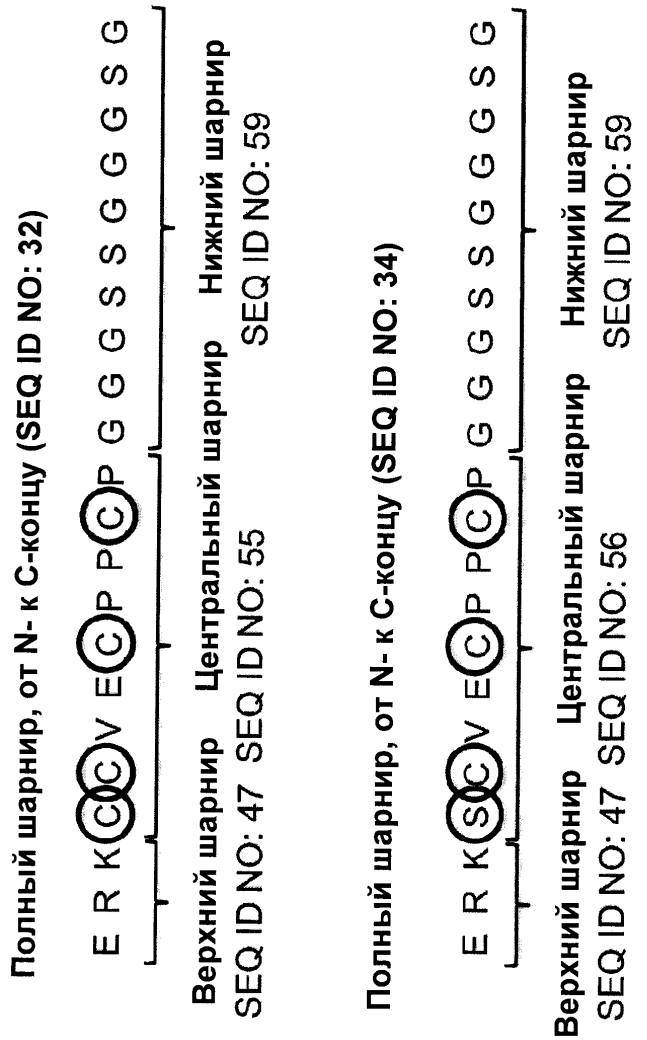
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 1
<223> Xaa = серин <220> <221> VARIANT <222> 2 <223> Xaa = D
<220> <221> VARIANT <222> 3 <223> Xaa = K <220> <221> VARIANT <222> 4, 6 <223>
Xaa = T <220> <221>
VARIANT <222> 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = P <220> <221> VARIANT <222> (5)...(5)
<223> Xaa = H <400> 247 Xaa
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 10 <210> 248 <211> 9 <212>
PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 2,
3, 5, 6, 8, 9 <223> Xaa = не цистеин <400> 248 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
Xaa 1 5 <210> 249 <211> 6 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220>
<223> Шарнирная область <220> <221> VARIANT <222> 2, 3, 5, 6 <223> Xaa = не
цистеин <400> 249 Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5 <210> 250 <211> 12 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Шарнирная область <220> <221>
VARIANT <222> 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12 <223> Xaa = не цистеин <400> 250 Cys Xaa
Xaa Cys Xaa Xaa Cys
Xaa Xaa Cys Xaa Xaa 1 5 10 <210> 251 <211> 8 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Миниантитело
<220> <221> VARIANT <222> 1, 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = не может представлять собой
цистеин <400> 251 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys 1 5 <210> 252 <211> 9 <212>
PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223> Миниантитело <220> <221>
VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота или отсутствие аминокислоты <220>
<221> VARIANT <222> 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = любая аминокислота <220> <221>
VARIANT <222> 9 <223> Xaa = любая аминокислота, отсутствие аминокислоты или P
<400> 252
Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa 1 5 <210> 253 <211> 9 <212> PRT <213>
Искусственная последовательность <220> <223> Миниантитело <220> <221> VARIANT
<222> 1, 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = не может представлять собой цистеин <220> <221>
VARIANT <222> 9 <223> Xaa = любая аминокислота, отсутствие аминокислоты или P
<400> 253 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa 1 5
<210> 254 <211> 9 <212> PRT <213> Искусственная последовательность <220> <223>
Миниантитело <220> <221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = любая аминокислота,
отличная от цистеина <220> <221> VARIANT <222> 3, 4, 6, 7 <223> Xaa = любая
аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 9 <223> Xaa = любая аминокислота,
отсутствие аминокислоты или P <400> 254 Xaa Cys Xaa Xaa
Cys Xaa Xaa Cys Xaa 1 5 <210> 255 <211> 9 <212> PRT <213> Искусственная
последовательность <220> <223> Миниантитело <220>
<221> VARIANT <222> 1 <223> Xaa = серин <220> <221> VARIANT <222> 3, 4, 6, 7
<223> Xaa = любая аминокислота <220> <221> VARIANT <222> 9 <223> Xaa = любая
аминокислота, отсутствие аминокислоты или P <400> 255 Xaa Cys Xaa Xaa Cys Xaa
Xaa Cys Xaa 1 5 <210> 256 <211> 50 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 256 Cys
Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys 1 5 10 15 Pro Arg
Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro 20 25 30 Arg Cys Pro Glu
Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg 35 40 45 Cys Pro 50


Ориентация M1
S
VL
L
VH
H
CH3
Ориентация M2
S
VH
L
VL
H
CH3
Антиген
Линкер
Шарнир
VL
VH
CH3
S = сигнальный пептид
VH = вариабельный домен тяжелой цепи
L = линкер
VL= вариабельный домен легкой цепи
H = шарнир
CH3 = домен CH3

ФИГ. 1

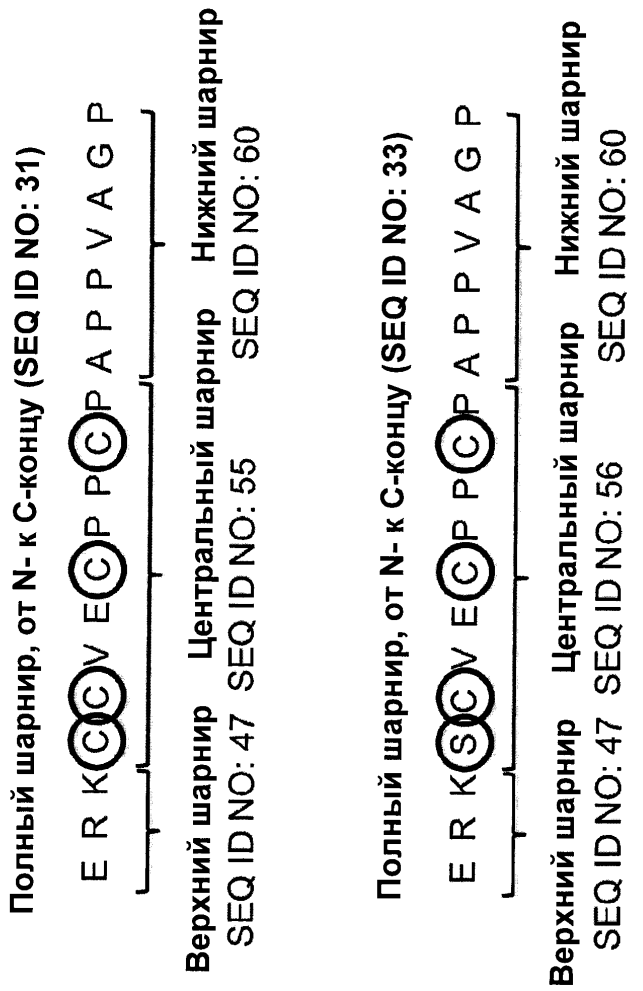

Полный шарнир, от N- к С-концу (SEQ ID NO: 22)
E P K S C D K T H T C P P C G G G S S G G G S G
Верхний шарнир SEQ ID NO: 45
Центральный шарнир SEQ ID NO: 50
Нижний шарнир SEQ ID NO: 59
Полный шарнир, от N- к С-концу (SEQ ID NO: 24)
E P K S S D K T H T C P P C G G G S S G G G S G
Верхний шарнир SEQ ID NO: 46
Центральный шарнир SEQ ID NO: 50
Нижний шарнир SEQ ID NO: 59

ФИГ. 2


Полный шарнир, от N- к С-концу (SEQ ID NO: 32)
E R K C C V E C P P C P G G G S S G G G S G
Верхний шарнир Центральный шарнир Нижний шарнир
SEQ ID NO: 47 SEQ ID NO: 55 SEQ ID NO: 59
Полный шарнир, от N- к С-концу (SEQ ID NO: 34)
E R K S C V E C P P C P G G G S S G G G S G
Верхний шарнир Центральный шарнир Нижний шарнир
SEQ ID NO: 47 SEQ ID NO: 56 SEQ ID NO: 59

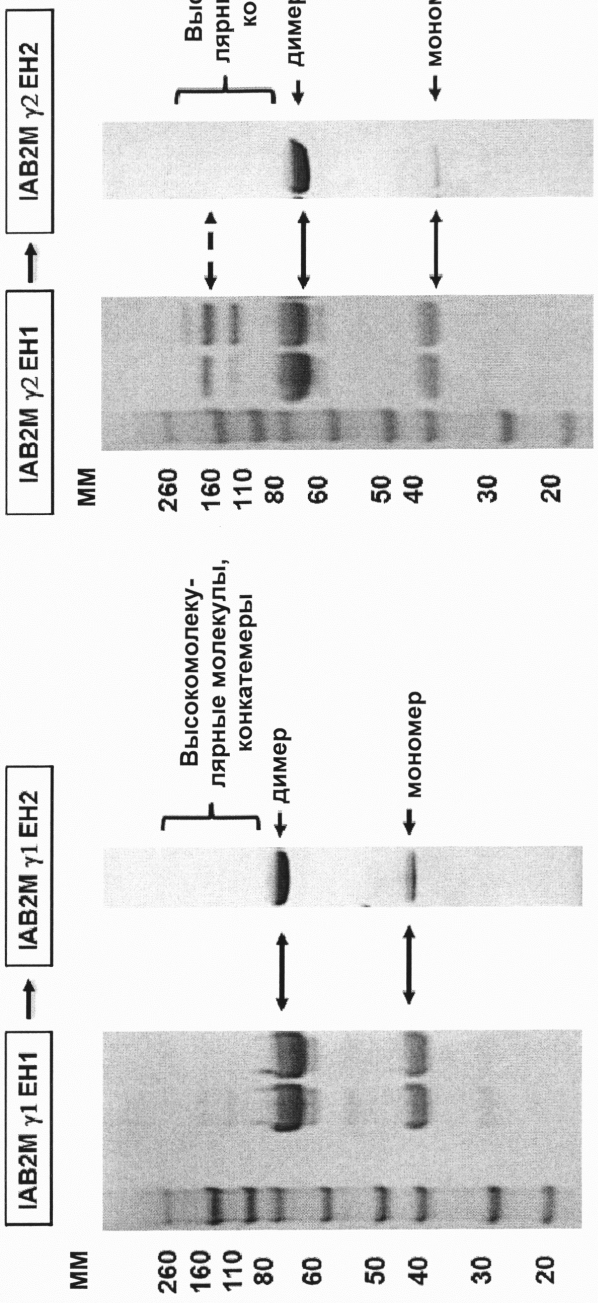
ФИГ. 3

52


Полный шарнир, от N- к С-концу (SEQ ID NO: 31)
E R K C C V E C P P C P A P P V A G P
Верхний шарнир Центральный шарнир Нижний шарнир
SEQ ID NO: 47 SEQ ID NO: 55 SEQ ID NO: 60
Полный шарнир, от N- к С-концу (SEQ ID NO: 33)
E R K S C V E C P P C P A P P V A G P
Верхний шарнир Центральный шарнир Нижний шарнир
SEQ ID NO: 47 SEQ ID NO: 56 SEQ ID NO: 60

ФИГ. 4

53


IAB2M γ1 EH1
IAB2M γ1 EH2
IAB2M γ2 EH1
IAB2M γ2 EH2
ММ
260
160
110
80
60
50
40
30
20
Высокомолекулярные молекулы, конкатемеры
димер
мономер

ФИГ. 5А

54

IAB2M EH1 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT
ISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDK
STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH1)
EPKSCDKTHTCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Верхний шарнир
EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 5B

55

IAB2M EH2 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTL
TISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH2)
EPKSSDKTHTCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 24)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 5C

IAB2M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 5D

IAB2M EH1 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTL
TISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH1)
ERKCCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 32)

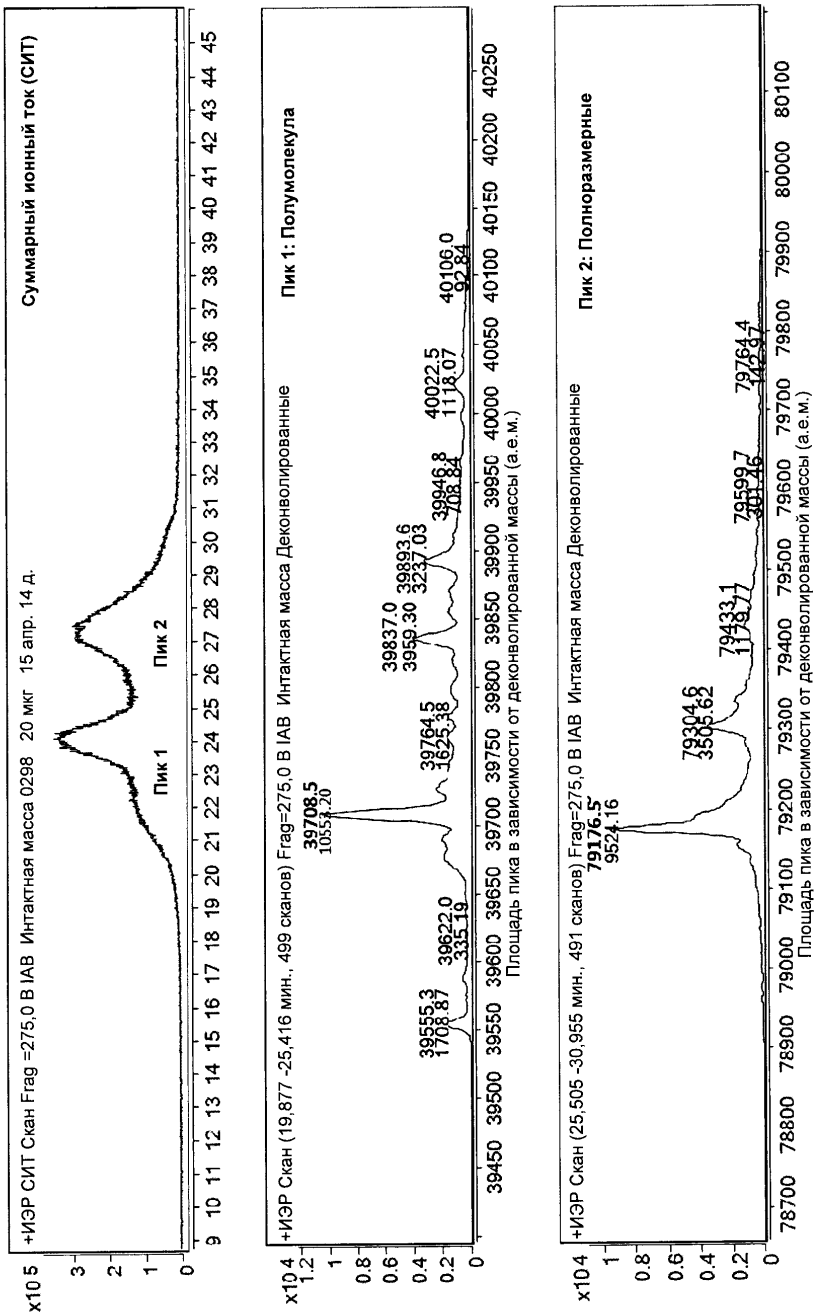
Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

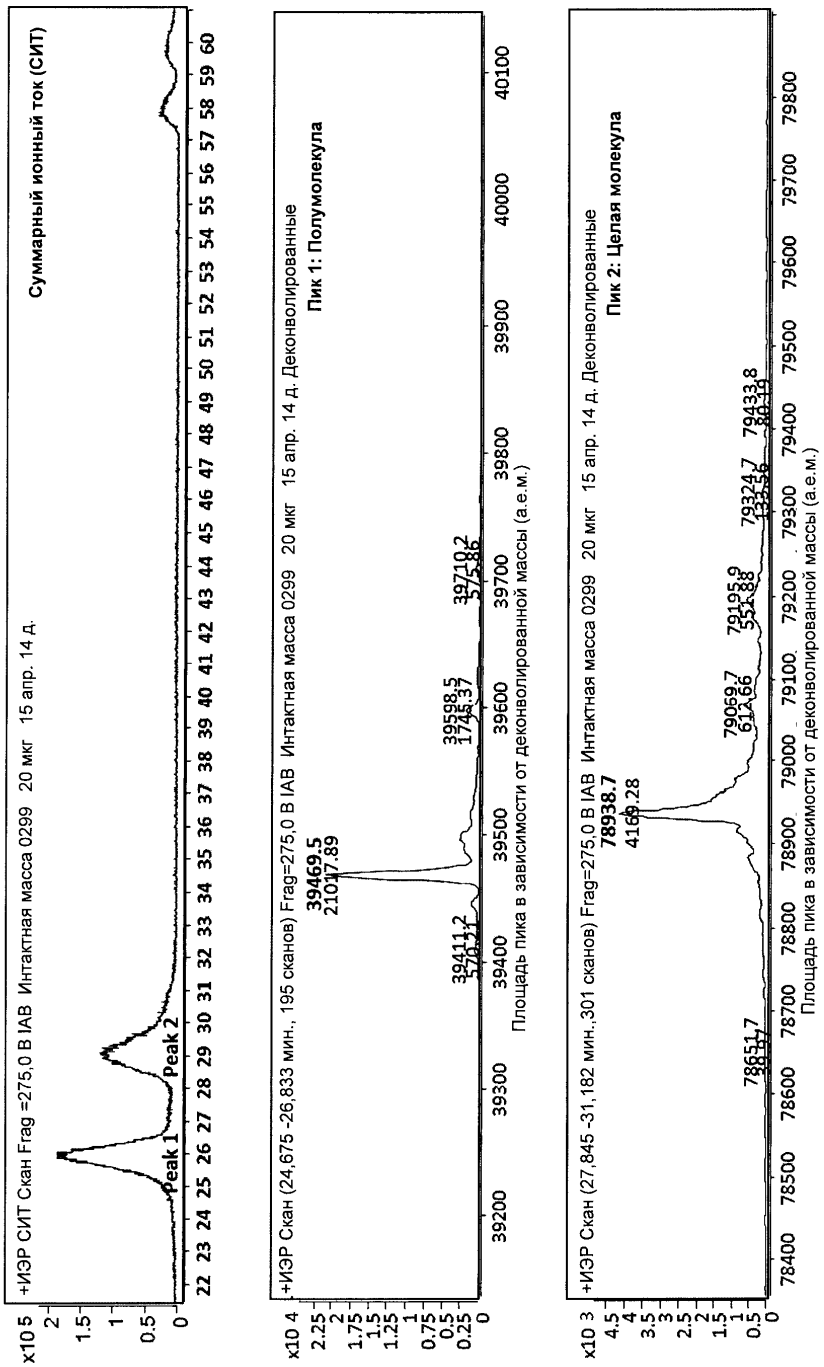
CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 5E

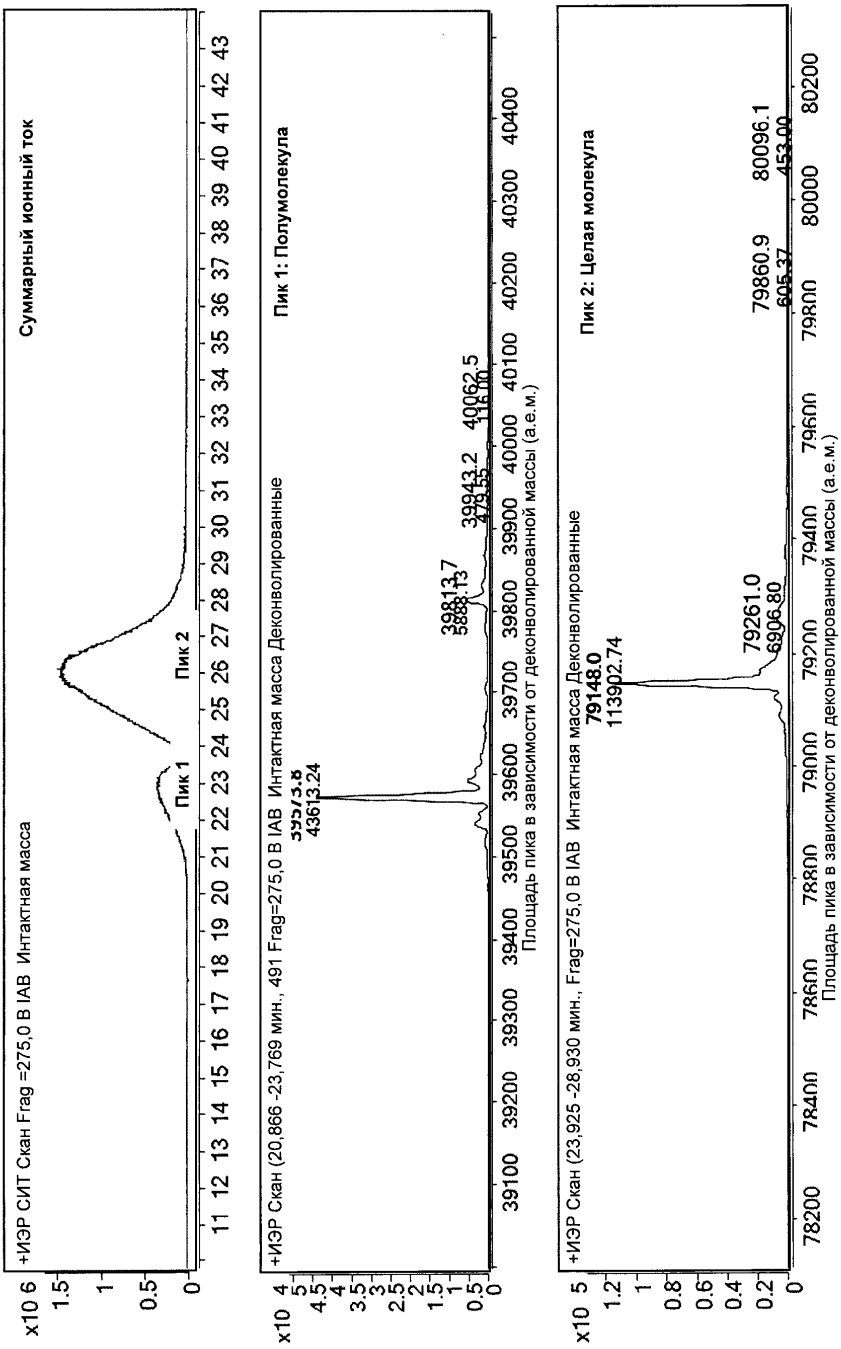

Анализ интактной массы IAB2M EH1 y1
+ИЭР СИТ Скан Frag =275,0 B IAB Интактная масса 0298 20 мкг 15 апр. 14 д.
Суммарный ионный ток (СИТ)
Пик 1
Пик 2
+ИЭР Скан (19,877 -25,416 мин., 499 сканов) Frag=275,0 B IAB Интактная масса Деконволированные
Пик 1: Полумолекула
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+ИЭР Скан (25,505 -30,955 мин., 491 сканов) Frag=275,0 B IAB Интактная масса Деконволированные
Пик 2: Полноразмерные
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

ФИГ. 6А

59

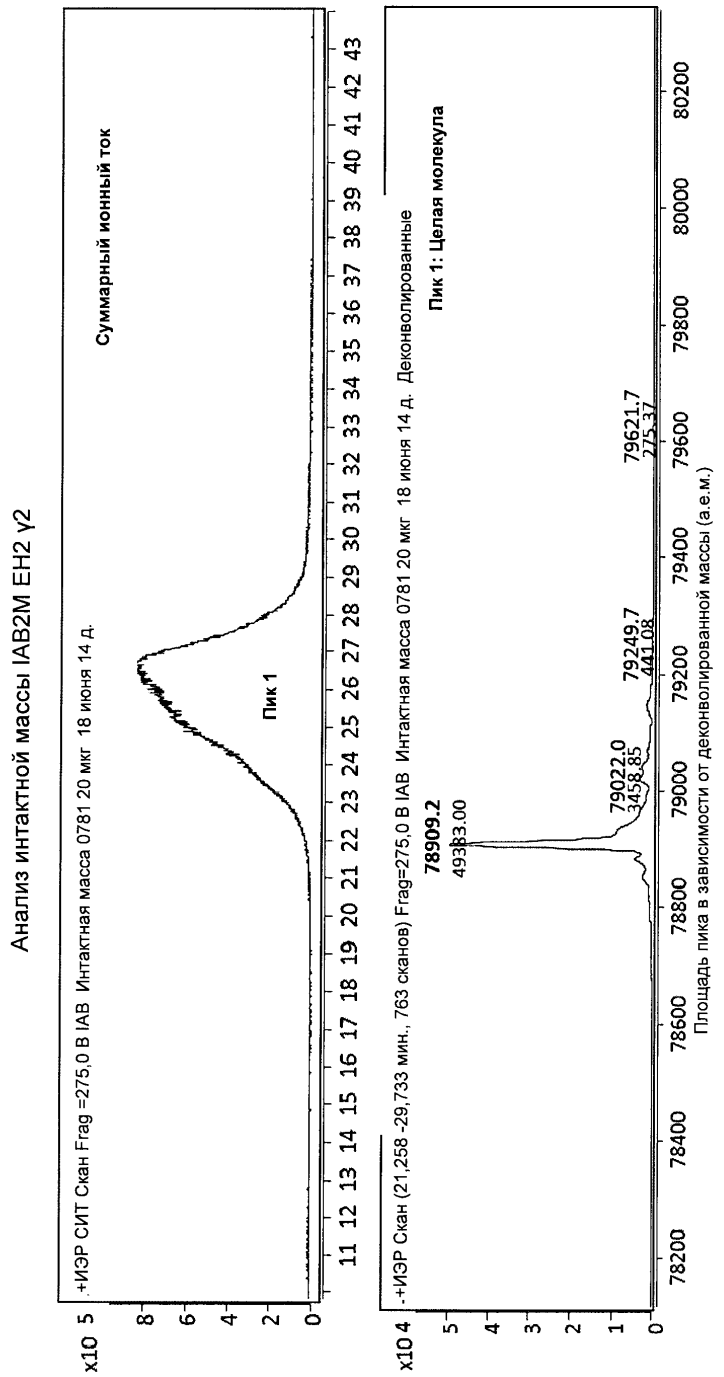

Анализ интактной массы IAB2M EH1 γ2
+ИЭР СИТ Скан Frag =275,0 В IAB Интактная масса 0299 20 мкг 15 апр. 14 д.
Суммарный ионный ток (СИТ)
Peak 1
Peak 2
+ИЭР Скан (24,675 -26,833 мин., 195 сканов) Frag=275,0 В IAB Интактная масса 0299 20 мкг 15 апр. 14 д. Деконволированные
Пик 1: Полумолекула
39469.5
21017.89
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+ИЭР Скан (27,845 -31,182 мин.,301 сканов) Frag=275,0 В IAB Интактная масса 0299 20 мкг 15 апр. 14 д. Деконволированные
Пик 2: Целая молекула
78938.7
41689.28
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

ФИГ. 6В


Анализ интактной массы IAB2M EH2 γ1
+ИЭР СИТ Скан Frag =275,0 В IAB Интактная масса
Суммарный ионный ток
Пик 1
Пик 2
+ИЭР Скан (20,866 -23,769 мин., 491 Frag=275,0 В IAB Интактная масса Деконволированные
Пик 1: Полумолекула
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+ИЭР Скан (23,925 -28,930 мин., Frag=275,0 В IAB Интактная масса Деконволированные
Пик 2: Целая молекула
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

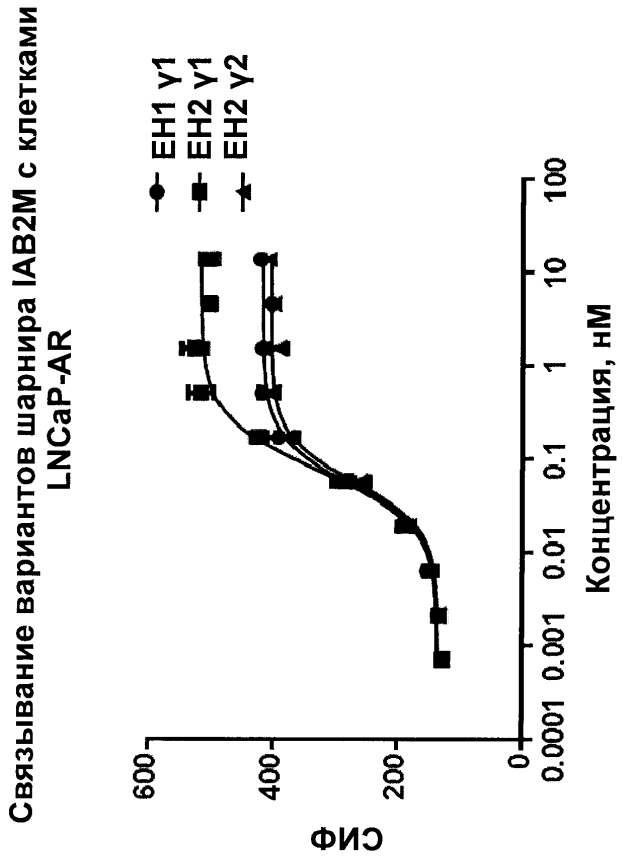
ФИГ. 6С

61


Анализ интактной массы IAB2M EH2 y2
+ИЭР СИТ Скан Frag =275,0 B IAB Интактная масса 0781 20 мкг 18 июня 14 д.
Суммарный ионный ток
Пик 1
x10 5
-+ИЭР Скан (21,258 -29,733 мин., 763 сканов) Frag=275,0 B IAB Интактная масса 0781 20 мкг 18 июня 14 д. Деконволированные
Пик 1: Целая молекула
78909.2
49383.00
79022.0
3458.85
79249.7
441.08
79621.7
275.37
x10 4
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

ФИГ. 6D

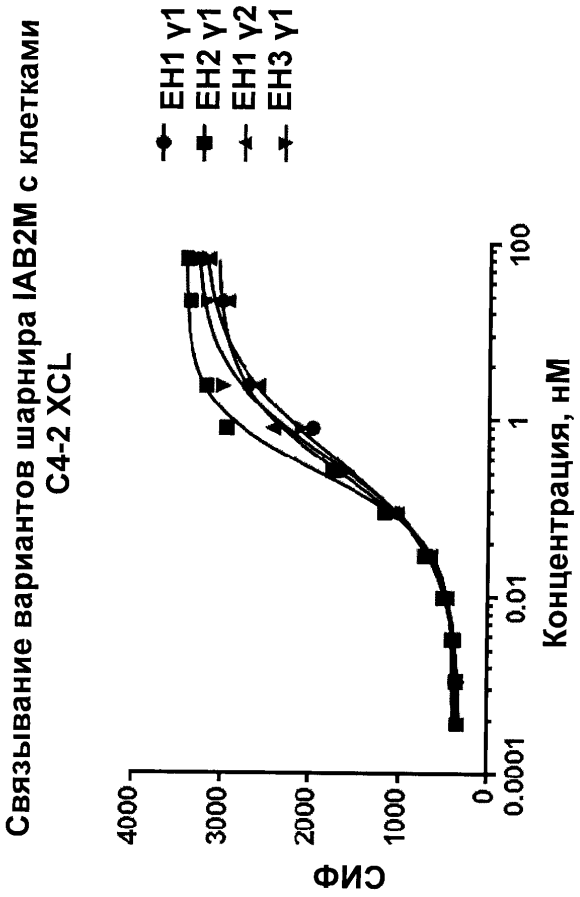
62



вариант	γ1 EH1	γ1 EH2	γ2 EH2
EC50, нМ	0.05	0.06	0.05

ФИГ. 7А

63



вариант	γ1 EH1	γ1 EH2	γ2 EH1	γ1 EH3
EC50, нМ	0.4	0.26	0.27	0.38

ФИГ. 7В

64

IAB2M EH3 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVD
KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH3)
EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 7C

IAB2M EH3 γ1 (от N- к C-концу)

IAB2M EH3 γ1 (M1)(SEQ ID NO: 7)
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDR
FTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTSGGGSGGGSGGG
GSSEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTT
YNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSSEPKSS
DKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPG (SEQ ID NO: 7)

IAB2M EH3 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 10)
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQ
KFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSSGSTSGGGS
GGGSGGGGSGSSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWA
STRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKEPKSSD
KTHTCPPCPPCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPG (SEQ ID NO: 10)

ФИГ. 7D

IAB2M EH3 γ1

IAB2M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 162)
gatattgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc
attacctgcaaagcgagccaggatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccg
ggcaaagcgccgaaactgctgatttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggat
cgctttaccggcagcggcagcggcaccgatttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagatttgcggattatttttgccagcagtataacagctatccgctgaccttggcggc
ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcggcggcagcggcgcggcagcggc
ggcggcgcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggc
gcgagcgtgaaaattagctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacaggcgagcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaac
ggcggcaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagc
accagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgcgcggcgggctggaactttgattattgggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagc
gaaccgaaaagcagcgataaaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcggcggcggc
agcagcggcggcggcagcggccgcgccagcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccg
agccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggctttat
ccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaacc
accccgccggtgctggatagcgatggcagcttttttctgtatagcaaactgaccgtggat
aaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcat
aaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggc (SEQ ID NO: 162)

ФИГ. 7E

IAB2M EH3 γ1

IAB2M EH3 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 165)
gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg
agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacgggcggcaccacctat
aaccagaaatttgaagatcgcgcgacccgaccctgacctggataaaagcaccagcaccgcgtat
atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg
aacttgattattgggccaggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc
ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcagcagcgatattgtgatgacccagagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag
gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctg
atttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgatttacctgaccattagcagcctgcagccggaagatttgcggattatttt
tgccagcagtataacagctatccgctgaccttggcggcggcaccaaactggaaattaaa
gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcggcggcggc
agcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccg
agccgcgaagaaatgaccaaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttat
ccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaacc
accccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactgaccgtggat
aaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcat
aaccattatacccagaaaaagcctgagcctgagcccgggc (SEQ ID NO: 165)

ФИГ. 7Е продолжение

Содержащие дисульфид пептиды, идентифицированные в димере IAB2M EH1 γ1

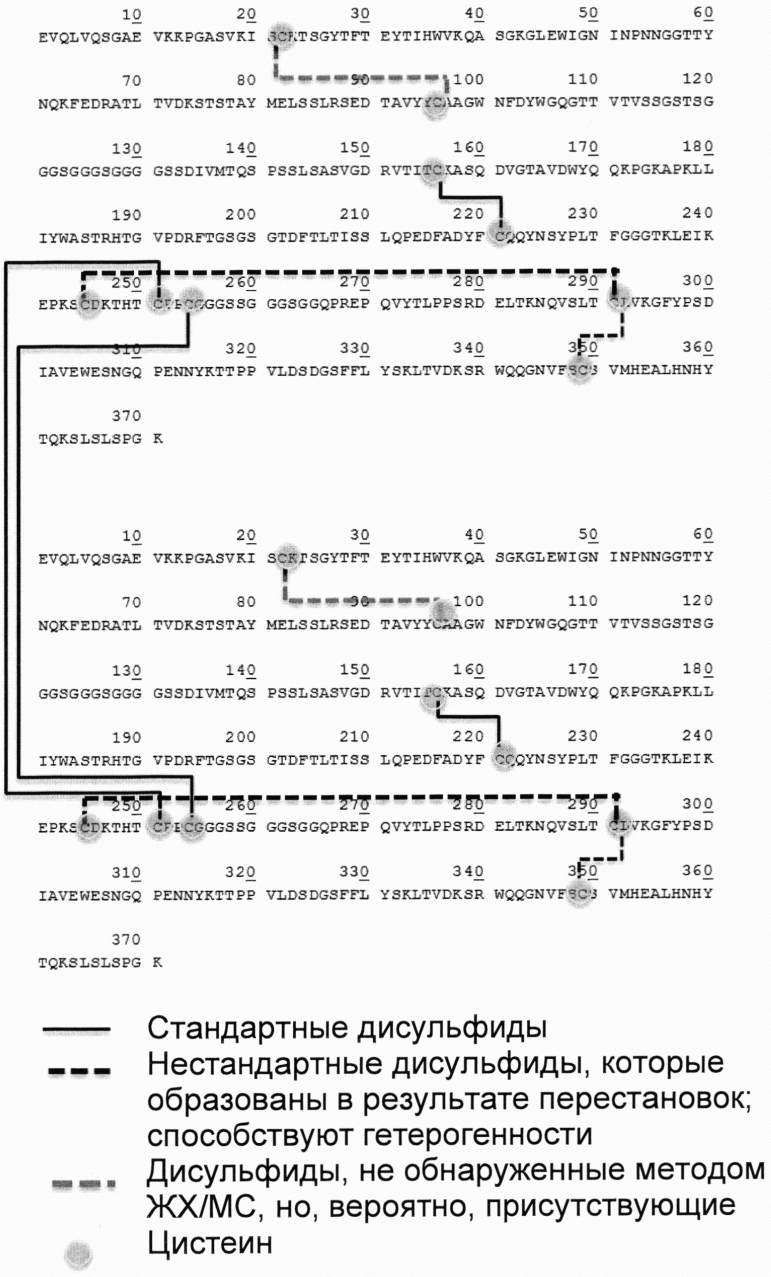
Связь/ модификация	Расположение в последовательности[a]	Последовательность	Теоретическая масса (Да)[b]	Наблюдаемая масса (Да)[c]	Разница час/ млн.	ВУ (мин.)	Распространенность[d]
Не наблюдается	A22-A96	Н/п	Н/п	Н/п	Н/п	Н/п	Н/п
Дисульфидная связь между цистеинами (A156-A221)*	A(152-157) + A(195-236)	VTITCK [**SEQ ID NO: 183**] + FTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPL TFGGGTK [**SEQ ID NO: 184**]	5208,3897	5208,3864	-0,63	89,9	1580663
Дисульфидная связь между цистеинами (A156-A221)*	A(152-157) + A(188-236)	VTITCK + [**SEQ ID NO: 183**] HTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQ QYNSYPLTFGGGTK [**SEQ ID NO: 185**]	5970,7669	5970,7586	-1,40	86,1	166671
Дисульфидная связь между цистеинами (A251-B251) Дисульфидная связь между цистеинами (A254- B254)	A(248-268) + B(248-268)	THTCPPCGGGSSGGGSGGQPR [**SEQ ID NO: 186**] + THTCPPCGGGSSGGGSGGQPR [**SEQ ID NO: 186**]	3707,5067	3707,5060	-0,18	22,1	583626
Дисульфидная связь между цистеинами (A245-A291)	A(244-247) + A (285-294)	SCDK [**SEQ ID NO: 187**] + NQVSLTCLVK [**SEQ ID NO: 188**]	1552,7589	1552,7590	0,07	43,8	84406
Дисульфидная связь между цистеинами (A291-A349)*	A(285-294) + A(341-363)	NQVSLTCLVK [**SEQ ID NO: 188**] +WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK [**SEQ ID NO: 189**]	3844,8236	3844,8202	-0,89	55,2	4949532
Дисульфидная связь между цистеинами (A291-A349)*	A(285-294) + A(339-363)	NQVSLTCLVK [**SEQ ID NO: 188**] + SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK [**SEQ ID NO: 190**]	4087,9568	4087,9615	1,16	54,0	647751
Алкилирования (винилпиридин (A291))	A(285-294)	NQVSLTCLVK [**SEQ ID NO: 188**]	1208,6587	1208,6578	-0,81	47,2	51583
Алкилирования (винилпиридин (A349))	A(341-363)	WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK [**SEQ ID NO: 189**]	2848,2962	2848,2955	-0,24	49,1	74838

[a]Расположение в последовательности A: тяжелая цепь №1; B: тяжелая цепь №2.
[b]Теоретические молекулярные массы (моноизотопные) рассчитывали с применением программного обеспечения MassHunter BioConfirm (Agilent, Санта-Клара, Калифорния).
[c]Все наблюдаемые массы (моноизотопные) находятся в пределах 3 част./млн. от теоретического значения.
[d]Распространенность определяли с применением программного обеспечения MassHunter (Agilent, Санта-Клара, Калифорния).
ВУ: время удерживания.
*Пептиды, демонстрирующие альтернативные варианты расщепления.

ФИГ. 8

69

Иллюстрация картирования дисульфидных связей IAB2M 1 (SEQ ID NO: 179)



Стандартные дисульфиды

Нестандартные дисульфиды, которые образованы в результате перестановок; способствуют гетерогенности

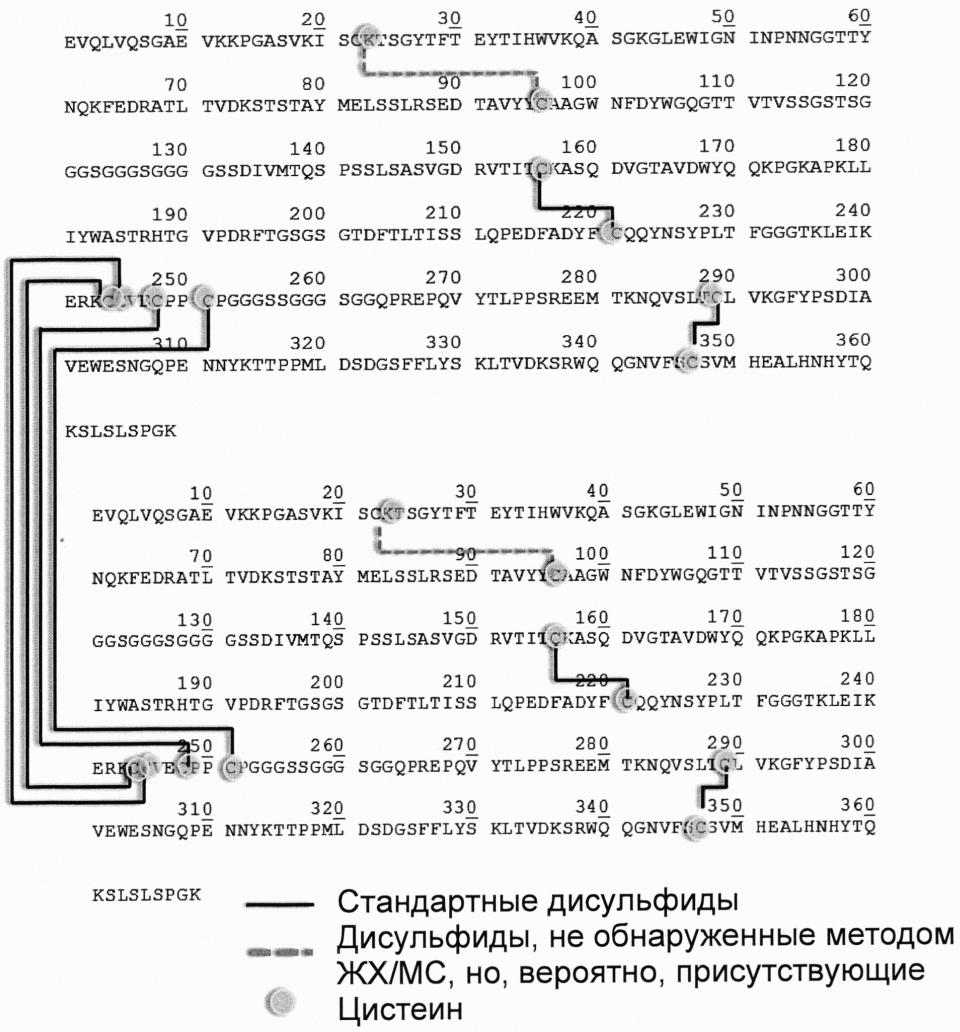
Дисульфиды, не обнаруженные методом ЖХ/МС, но, вероятно, присутствующие

Цистеин

ФИГ. 9

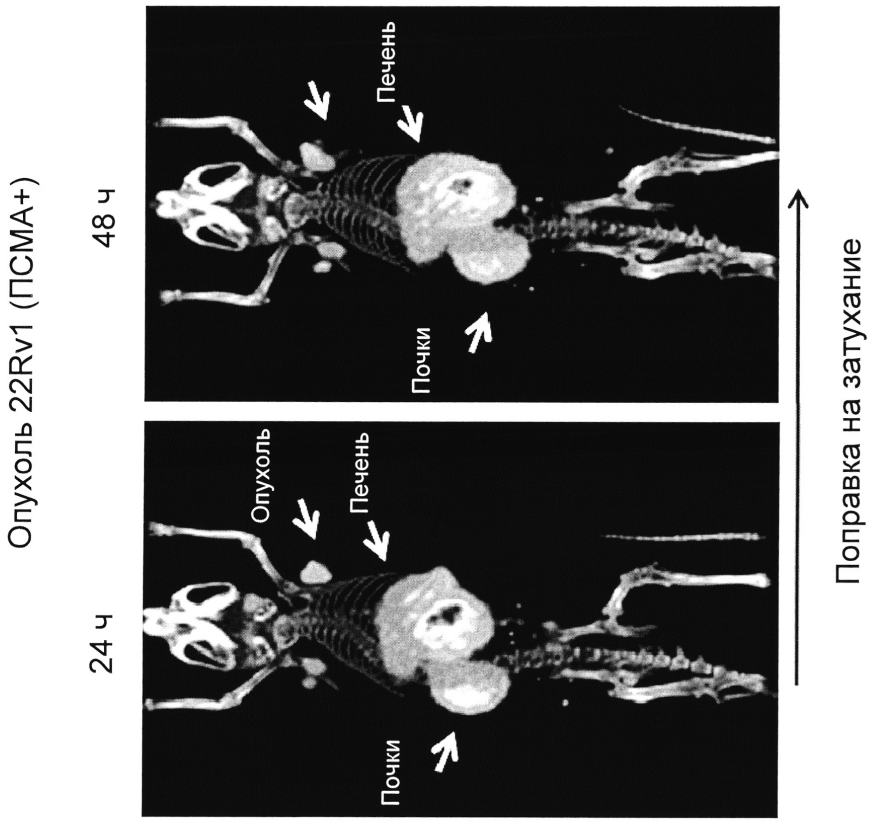
70

Иллюстрация картирования дисульфидных связей IAB2M 2 (SEQ ID NO: 180)

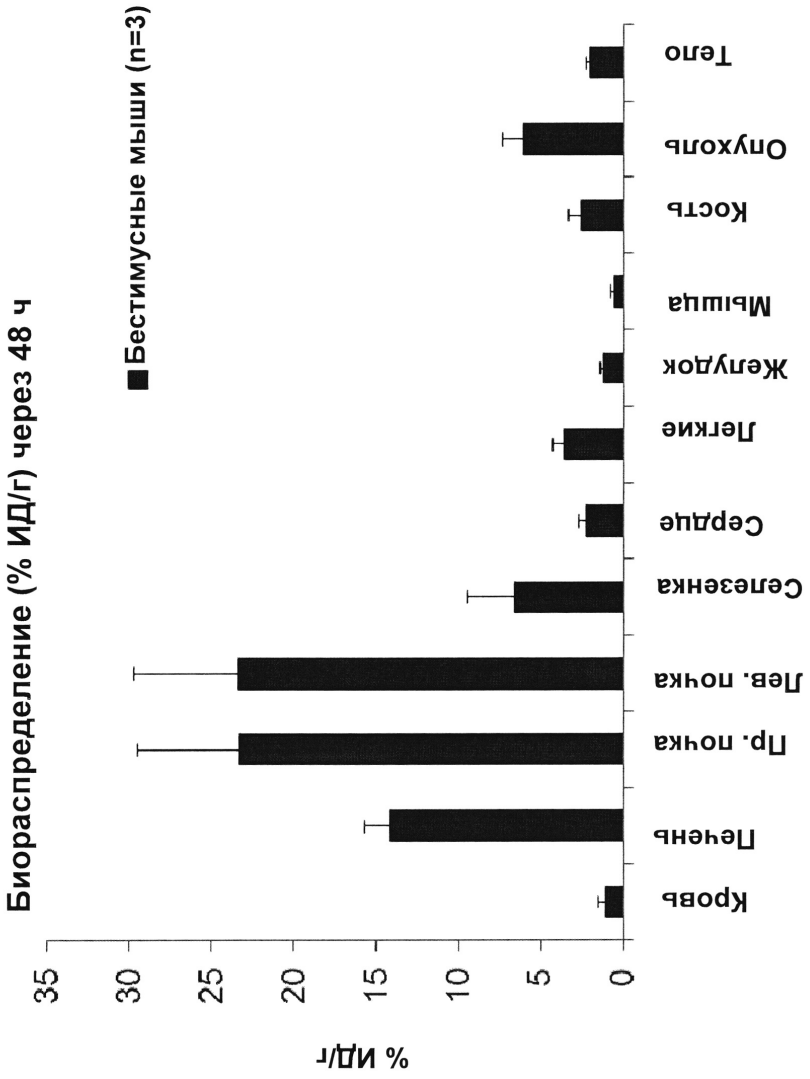


ФИГ. 10

71


Опухоль 22Rv1 (ПСМА+)
24 ч
48 ч
Опухоль
Печень
Почки
Печень
Почки
Поправка на затухание

ФИГ. 11А

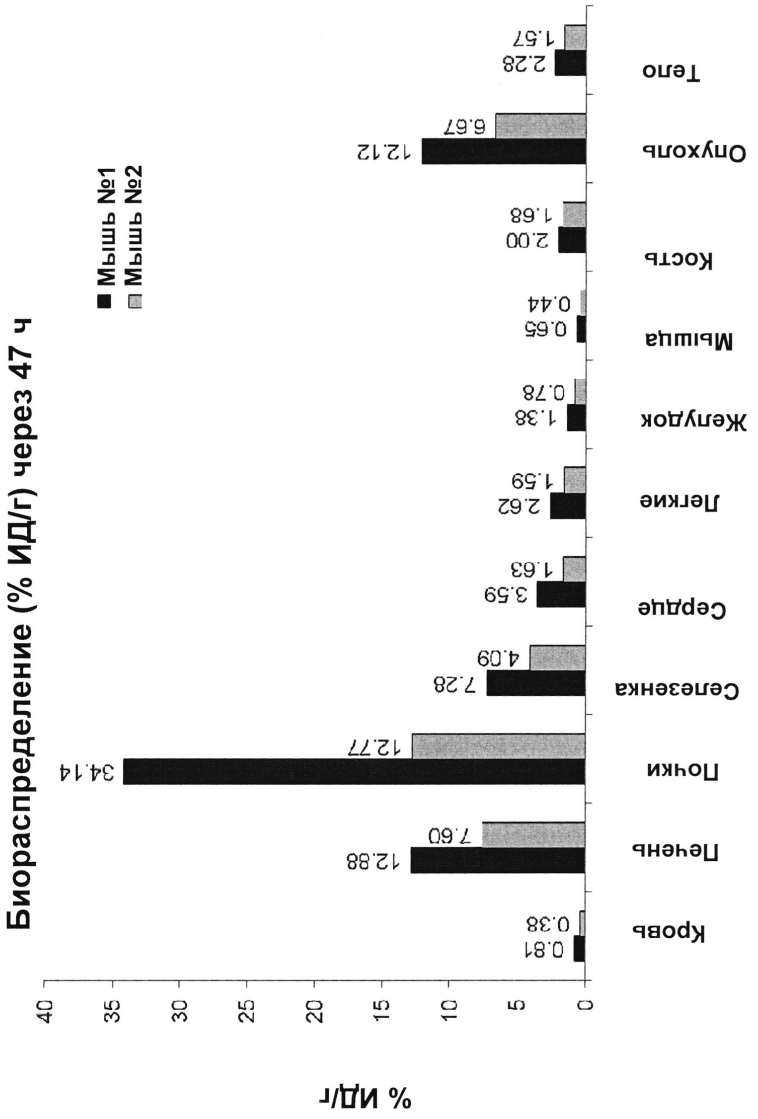

Биораспределение (% ИД/г) через 48 ч
Бестимусные мыши (n=3)
% ИД/г
0
5
10
15
20
25
30
35
Кровь
Печень
Пр. почка
Лев. почка
Селезенка
Сердце
Легкие
Желудок
Мышца
Кость
Опухоль
Тело

ФИГ. 11В

Опухоль 22Rv1 (ПСМА+)
24 ч
47 ч
Опухоль
Печень
Почки
Опухоль
Печень
Почки

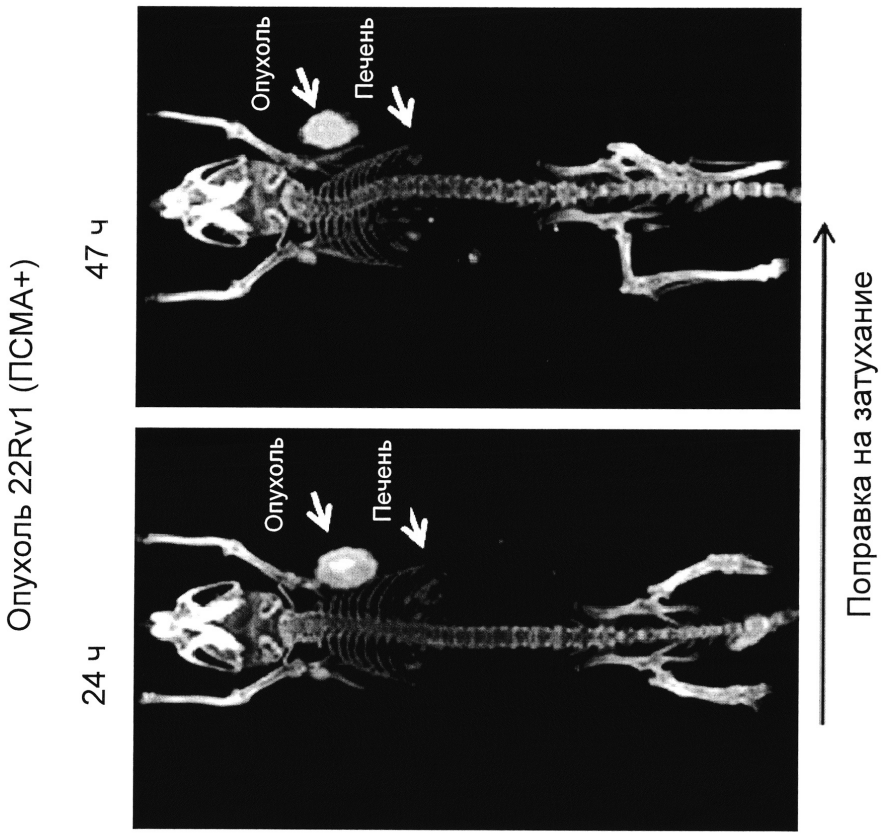
ФИГ. 12А

74

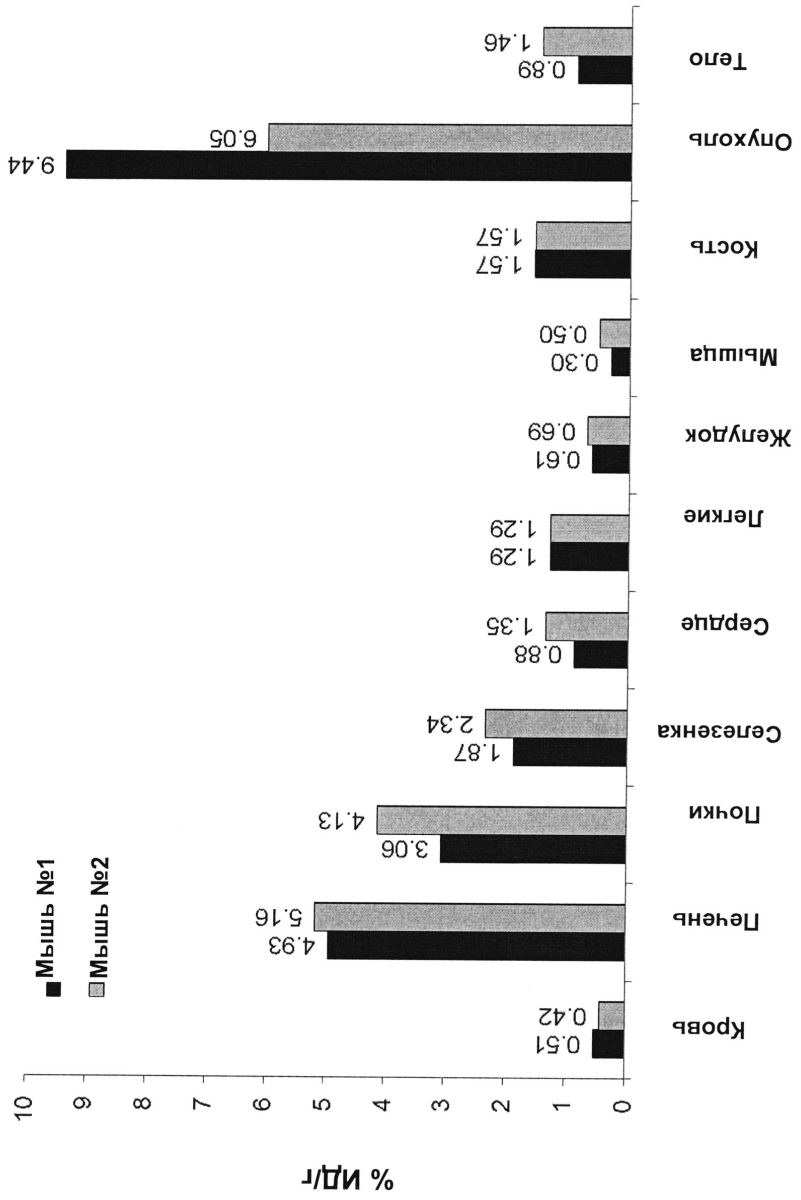

Биораспределение (% ИД/г) через 47 ч
Мышь №1
Мышь №2
% ИД/г
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Кровь
0.81
0.38
Печень
12.88
7.60
Почки
34.14
12.77
Селезенка
7.28
4.09
Сердце
3.59
1.63
Легкие
2.62
1.59
Желудок
1.38
0.78
Мышца
0.65
0.44
Кость
2.00
1.68
Опухоль
12.12
6.67
Тело
2.28
1.57

ФИГ. 12В

75

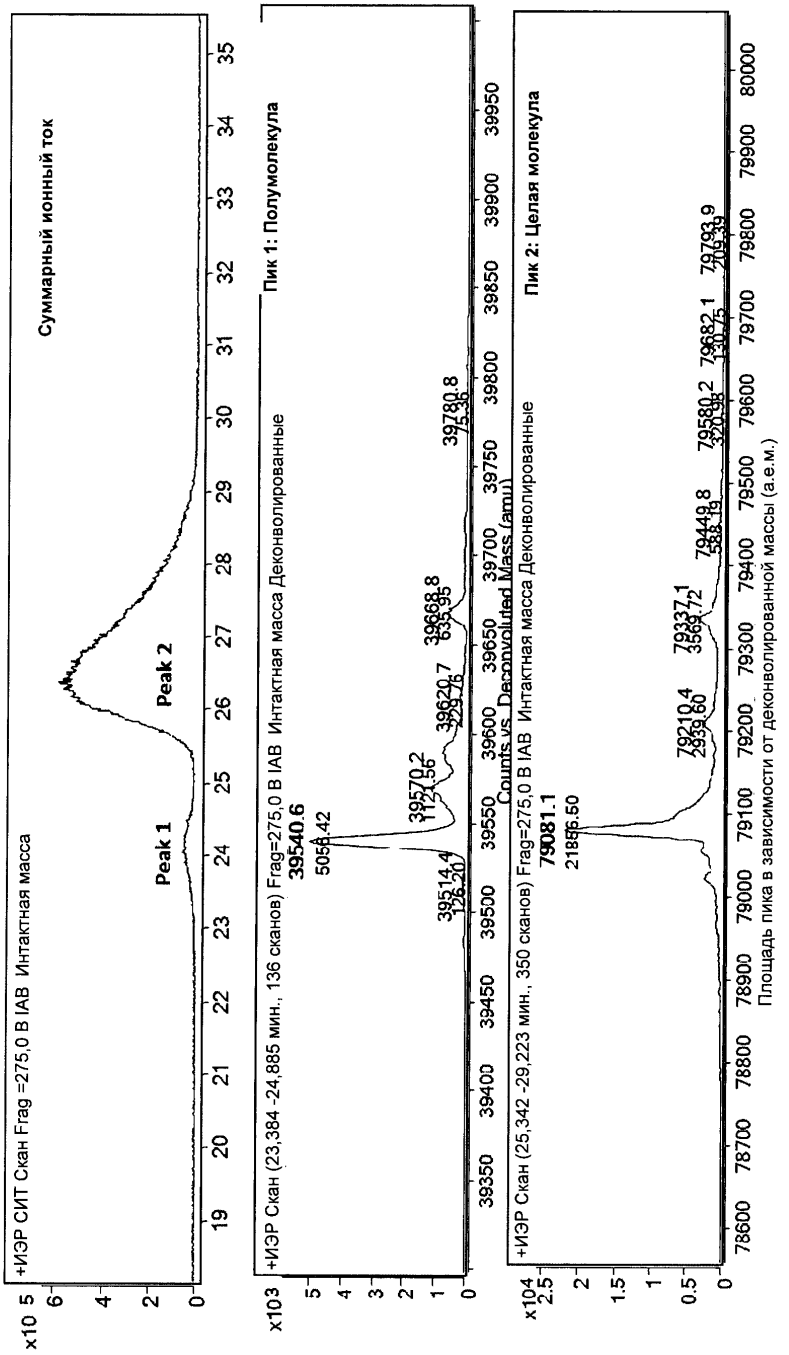

Опухоль 22Rv1 (ПСМА+)
47 ч
24 ч
Опухоль
Печень
Опухоль
Печень
Поправка на затухание

ФИГ. 13А


% ИД/г
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Мышь №1
Мышь №2
Кровь
0.51
0.42
Печень
4.93
5.16
Почки
3.06
4.13
Селезенка
1.87
2.34
Сердце
0.88
1.35
Легкие
1.29
1.29
Желудок
0.61
0.69
Мышца
0.30
0.50
Кость
1.57
1.57
Опухоль
6.05
9.44
Тело
0.89
1.46

ФИГ. 13В

77


Анализ интактной массы IAB22M EH1 γ2
+ИЭР СИТ Скан Frag =275,0 B IAB Интактная масса
Суммарный ионный ток
Peak 1
Peak 2
+ИЭР Скан (23,384 -24,885 мин., 136 сканов) Frag=275,0 B IAB Интактная масса Деконволированные
Пик 1: Полумолекула
39540.6
+ИЭР Скан (25,342 -29,223 мин., 350 сканов) Frag=275,0 B IAB Интактная масса Деконволированные
Пик 2: Целая молекула
79081.1
Counts vs. Deconvoluted Mass (amu)
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

ФИГ. 14А

78

IAB22M EH1 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH1)
ERKCCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 32)

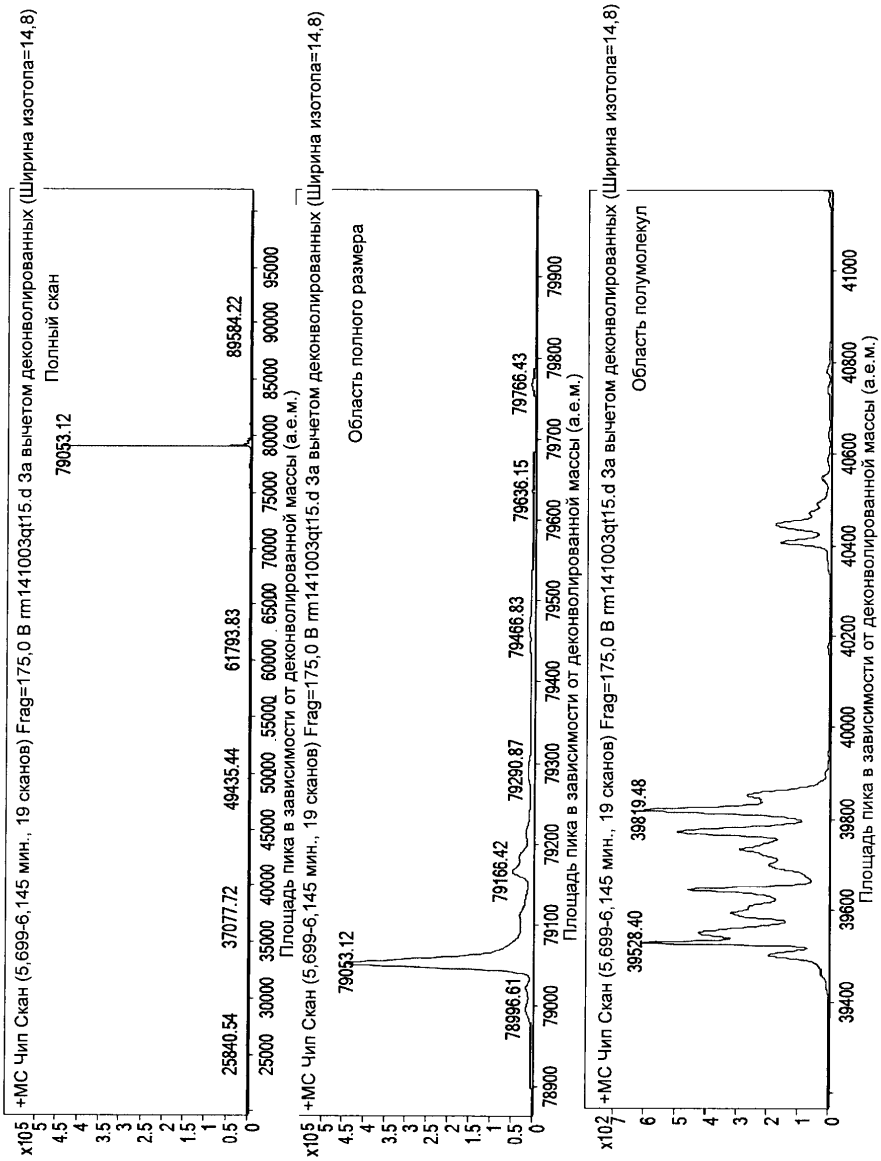
Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 14B


Анализ интактной массы IAB22M EH2 γ2
+MC Чип Скан (5,699-6,145 мин., 19 сканов) Frag=175,0 B rm141003qt15.d За вычетом деконволированных (Ширина изотопа=14,8)
Полный скан
79053.12
25840.54
37077.72
49435.44
61793.83
89584.22
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
Область полного размера
78996.61
79053.12
79166.42
79290.87
79466.83
79636.15
79766.43
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
Область полумолекул
39528.40
39819.48
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

ФИГ. 15A

80

IAB22M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

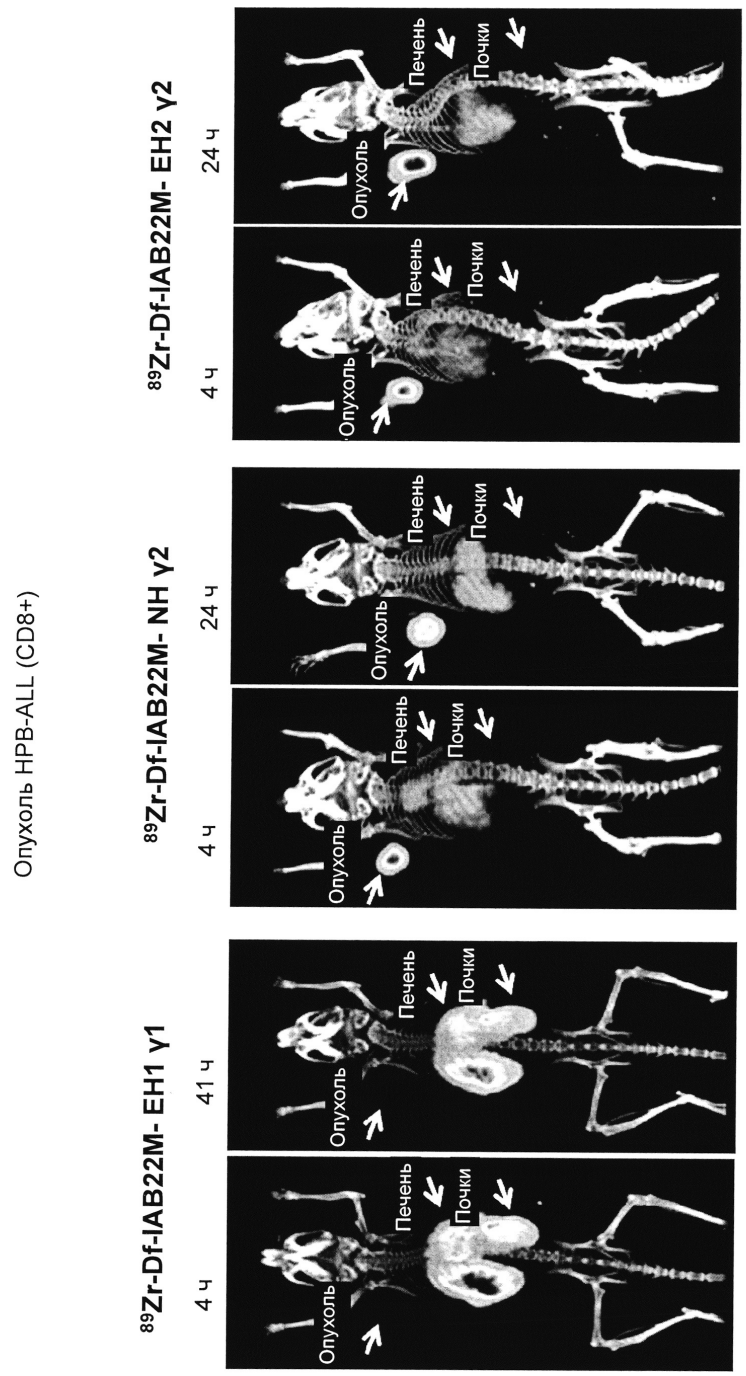
Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 15B


Опухоль HPB-ALL (CD8+)
^{89}Zr-Df-IAB22M- EH1 γ1
^{89}Zr-Df-IAB22M- NH γ2
^{89}Zr-Df-IAB22M- EH2 γ2
4 ч
41 ч
24 ч
Опухоль
Печень
Почки

ФИГ. 16А

IAB22M EH1 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH1)
EPKSCDKTHTCPPCGGGSGGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Верхний шарнир
EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 16B

IAB22M NH1 γ2 (от N- к С-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKN
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (NH1)
ERKCCVECPPCPAPPVAGP (SEQ ID NO: 31)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)

Нижний шарнир
APPVAGP (SEQ ID NO: 60)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 16С

IAB22M NH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (NH2)
ERKSCVECPPCPAPPVAGP (SEQ ID NO: 33)

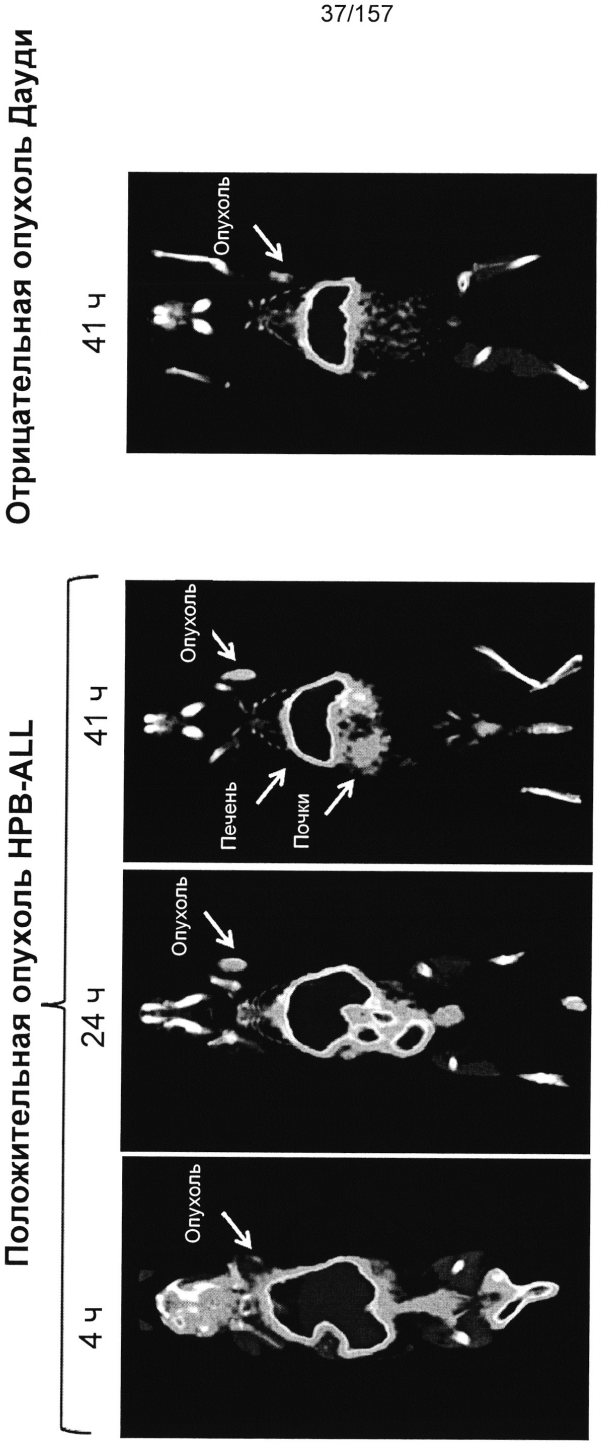
Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

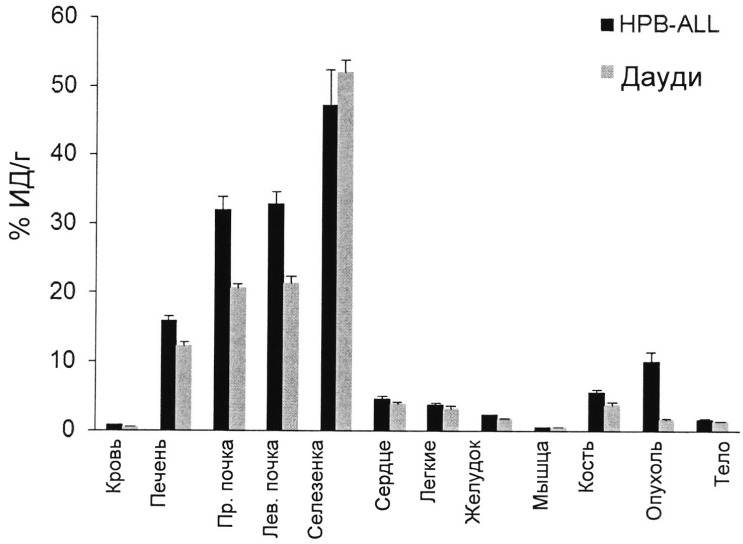
Нижний шарнир
APPVAGP (SEQ ID NO: 60)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 16D


Положительная опухоль HPB-ALL
4 ч
24 ч
41 ч
Опухоль
Опухоль
Печень
Почки
Отрицательная опухоль Дауди
41 ч
Опухоль

ФИГ. 17



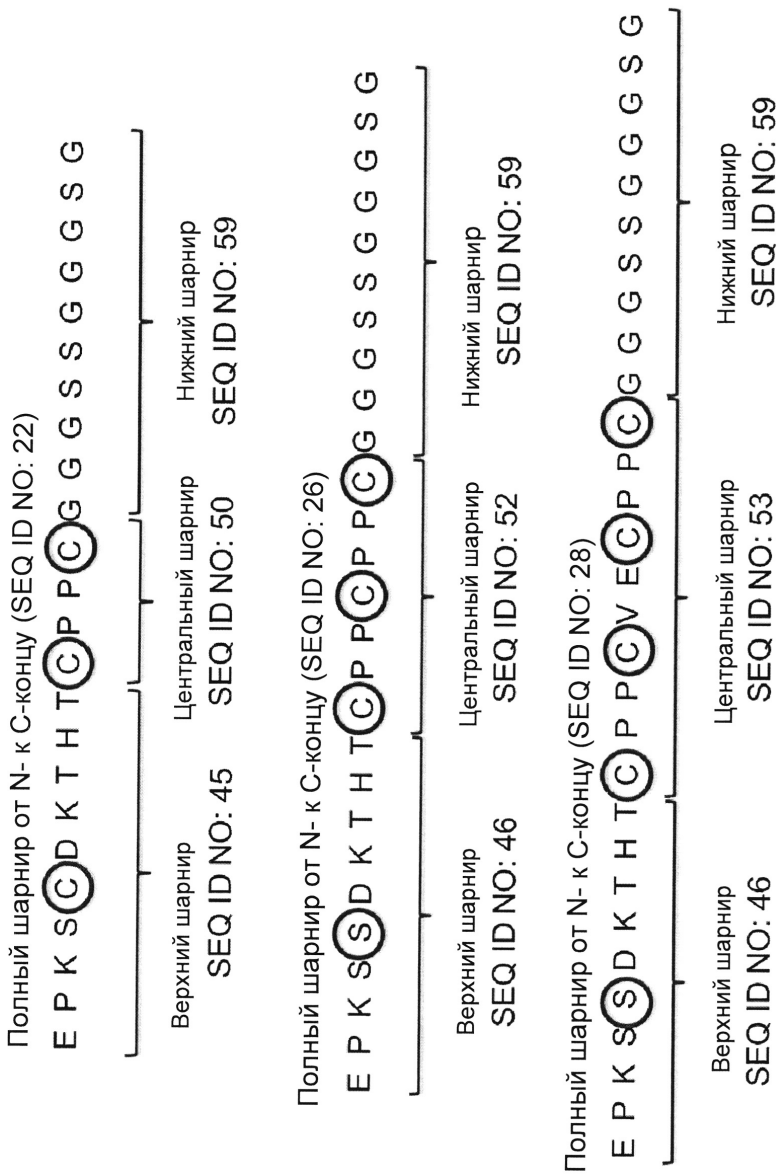
Биораспределение (% ИД/г) через 41 ч (n=4)

	HPB-ALL	STD	Дауди i	STD
Кровь	0.74	0.09	0.45	0.11
Печень	15.94	1.21	12.18	1.20
Пр. почка	31.94	3.81	20.62	1.00
Лев. почка	32.75	3.61	21.38	1.86
Селезенка	47.19	8.88	51.91	3.15
Сердце	4.56	0.76	3.89	0.57
Легкие	3.74	0.58	3.10	0.93
Желудок	2.28	0.19	1.72	0.19
Мышца	0.51	0.07	0.45	0.11
Кость	5.56	0.80	3.70	0.86
Опухоль	10.04*	2.38	1.58	0.38
Тело	1.65	0.19	1.34	0.09

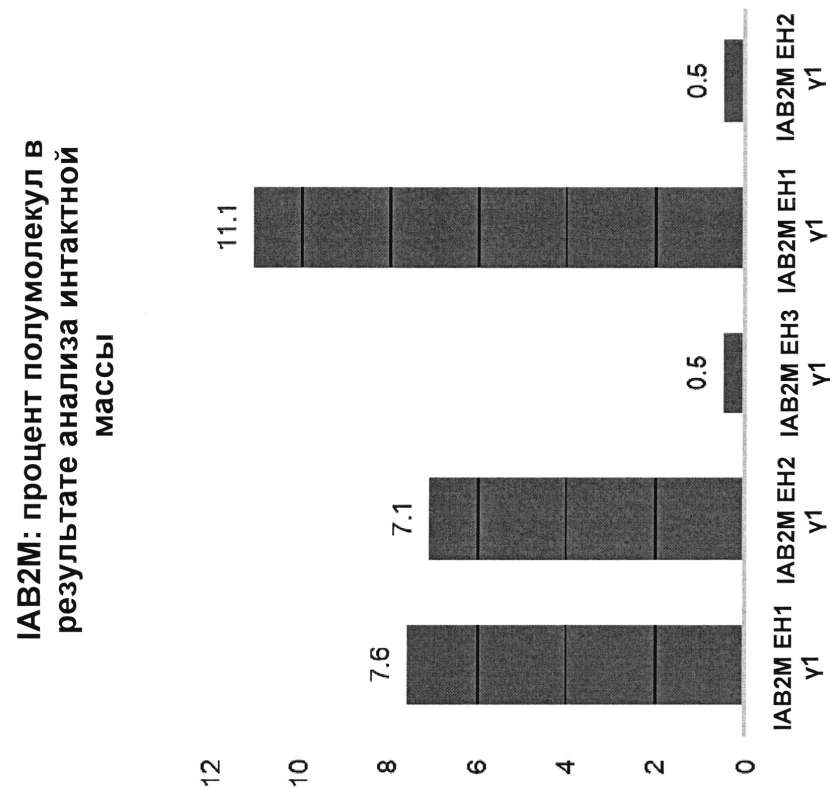
*** n=3**

ФИГ. 18

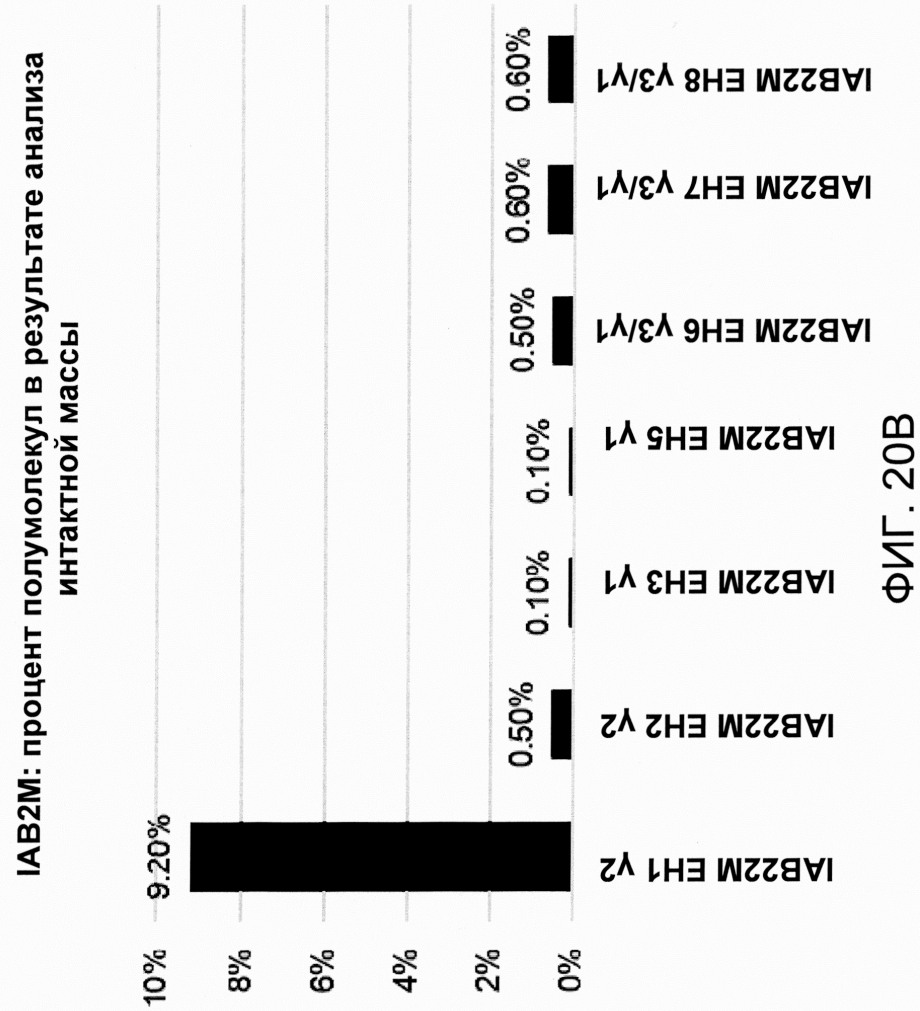
87


Полный шарнир от N- к С-концу (SEQ ID NO: 22)
E P K S C D K T H T C P P C G G G S S G G G G S G
Верхний шарнир
SEQ ID NO: 45
Центральный шарнир
SEQ ID NO: 50
Нижний шарнир
SEQ ID NO: 59
Полный шарнир от N- к С-концу (SEQ ID NO: 26)
E P K S S D K T H T C P P C P C G G G S S G G G G S G
Верхний шарнир
SEQ ID NO: 46
Центральный шарнир
SEQ ID NO: 52
Нижний шарнир
SEQ ID NO: 59
Полный шарнир от N- к С-концу (SEQ ID NO: 28)
E P K S S D K T H T C P P C V E C P P C G G G S S G G G G S G
Верхний шарнир
SEQ ID NO: 46
Центральный шарнир
SEQ ID NO: 53
Нижний шарнир
SEQ ID NO: 59

ФИГ. 19


IAB2M: процент полумолекул в результате анализа интактной массы
12
10
8
6
4
2
0
7.6
7.1
0.5
11.1
0.5
IAB2M EH1 Y1
IAB2M EH2 Y1
IAB2M EH3 Y1
IAB2M EH1 Y1
IAB2M EH2 Y1

ФИГ. 20А


IAB2M: процент полумолекул в результате анализа интактной массы
10%
8%
6%
4%
2%
0%
9.20%
0.50%
0.10%
0.10%
0.50%
0.60%
0.60%
IAB2M EH1 γ2
IAB2M EH2 γ2
IAB2M EH3 γ1
IAB2M EH5 γ1
IAB2M EH6 γ3/γ1
IAB2M EH7 γ3/γ1
IAB2M EH8 γ3/γ1

ФИГ. 20В

90

IAB22M EH3 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCGRGYGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH3)
EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 20C

IAB22M EH5 γ1 (от N- к С-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDV
ATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH5)
EPKSSDKTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 30)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 20D

92

IAB22M EH6 γ3/γ1 (от N- к С-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYL
QMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH6)
ELKTPLGDTTHTCVECPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 35)

Верхний шарнир
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Центральный шарнир
CVECPPC (SEQ ID NO: 57)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 20E

IAB22M EH7 γ3/γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH7)
ELKTPLGDTTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 36)

Верхний шарнир
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Центральный шарнир
CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 20F

IAB22M EH8 γ3/γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQ
MNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полный шарнир (EH8)
ELKTPLGDTTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 37)

Верхний шарнир
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

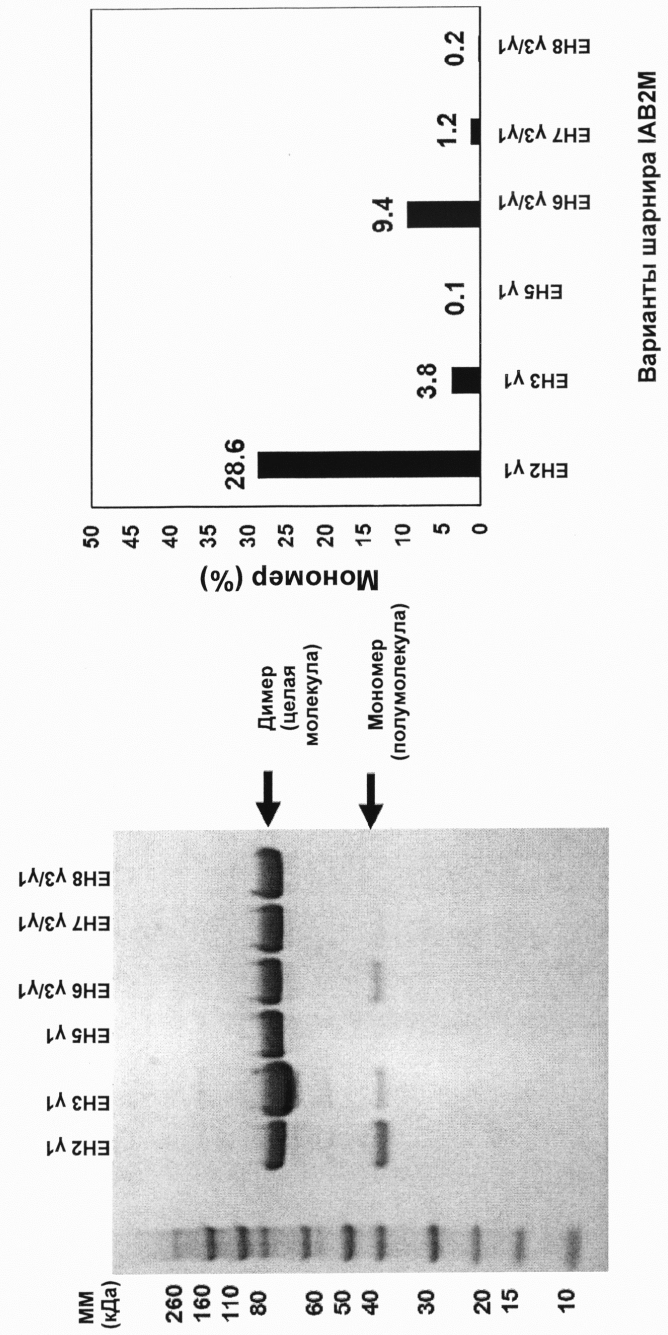
Центральный шарнир
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 20G


Мономер (%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
28.6
3.8
0.1
9.4
1.2
0.2
EH2 γ1
EH3 γ1
EH5 γ1
EH6 γ3/γ1
EH7 γ3/γ1
EH8 γ3/γ1
Варианты шарнира IAB2M
Димер (целая молекула)
Мономер (полумолекула)
ММ (кДа)
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

ФИГ. 21А

IAB2M EH5 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH5)
EPKSSDKTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 30)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 21B

IAB2M EH6 γ3/γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH6)
ELKTPLGDTTHTCVECPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 35)

Верхний шарнир
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Центральный шарнир
CVECPPC (SEQ ID NO: 57)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 21C

lAB2M EH7 γ3/γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMEL
SSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH7)
ELKTPLGDTTHTCPPCPPCGGGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 36)

Верхний шарнир
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Центральный шарнир
CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 21D

lAB2M EH8 γ3/γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против ПСМА
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSL
QPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против ПСМА
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTST
AYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 14)

Полный шарнир (EH8)
ELKTPLGDTTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 37)

Верхний шарнир
ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)

Центральный шарнир
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

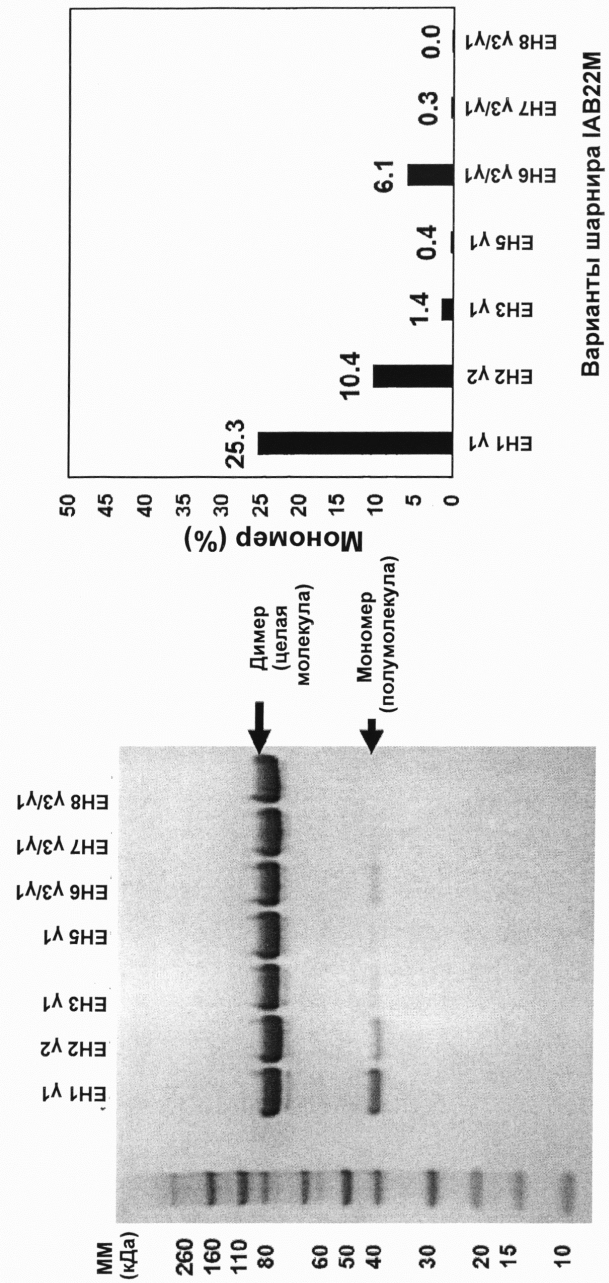
Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 21E

100


Мономер (%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
25.3
10.4
1.4
0.4
6.1
0.3
0.0
EH1 γ1
EH2 γ2
EH3 γ1
EH5 γ1
EH6 γ3/γ1
EH7 γ3/γ1
EH8 γ3/γ1
Варианты шарнира IAB22M
Димер (целая молекула)
Мономер (полумолекула)
ММ (кДа)
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

ФИГ. 22А

IAB22M EH2 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD8
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 15)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против CD8
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)

Полноразмерный (EH2)
EPKSSDKTHTCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 24)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

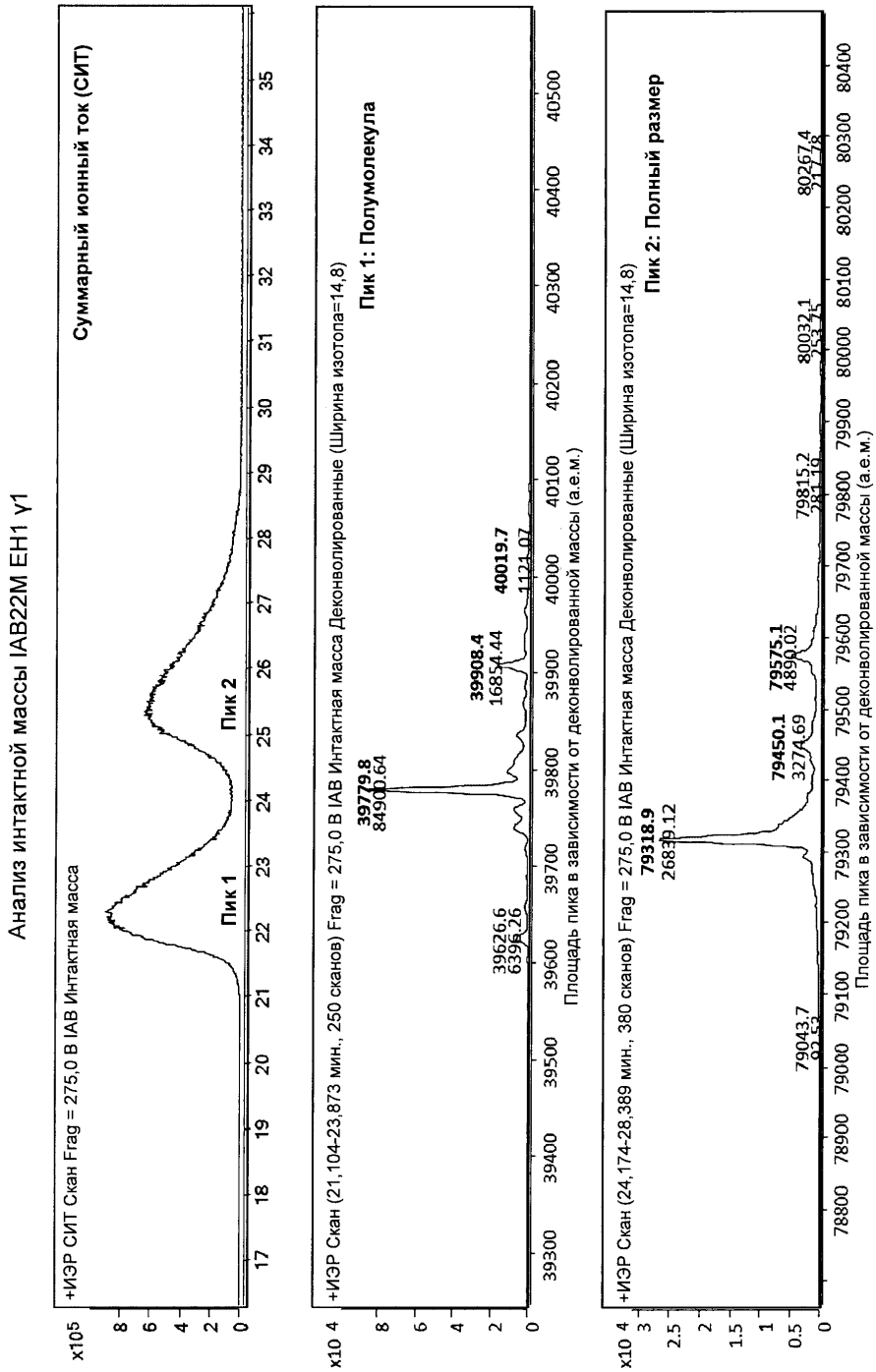
Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

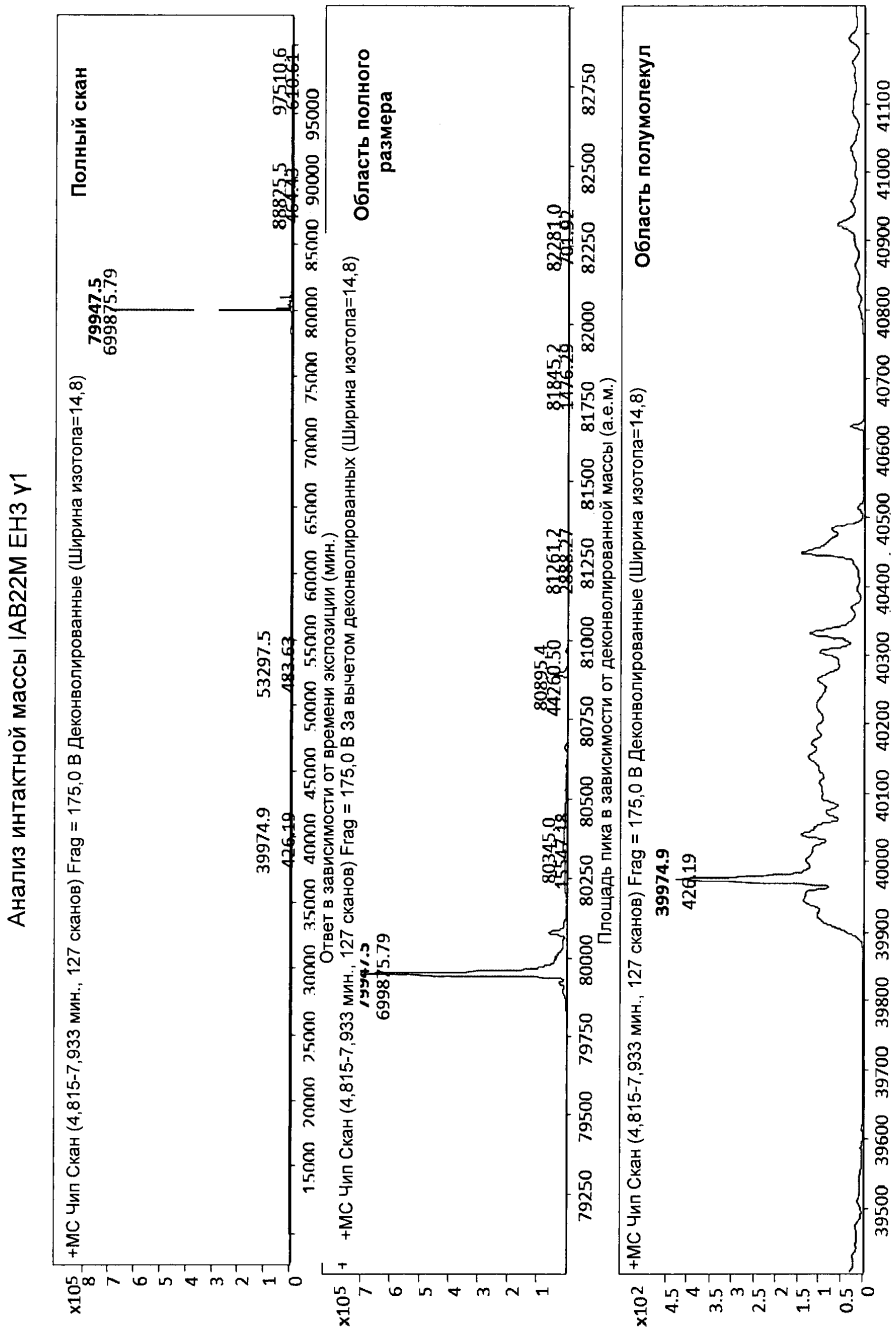
ФИГ. 22B

102


Анализ интактной массы IAB22M EH1 γ1
Суммарный ионный ток (СИТ)
+ИЭР СИТ Скан Frag = 275,0 B IAB Интактная масса
Пик 1
Пик 2
x10 5
+ИЭР Скан (21,104-23,873 мин., 250 сканов) Frag = 275,0 B IAB Интактная масса Деконволированные (Ширина изотопа=14,8)
Пик 1: Полумолекула
39779.8
39908.4
40019.7
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+ИЭР Скан (24,174-28,389 мин., 380 сканов) Frag = 275,0 B IAB Интактная масса Деконволированные (Ширина изотопа=14,8)
Пик 2: Полный размер
79318.9
79450.1
79575.1
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

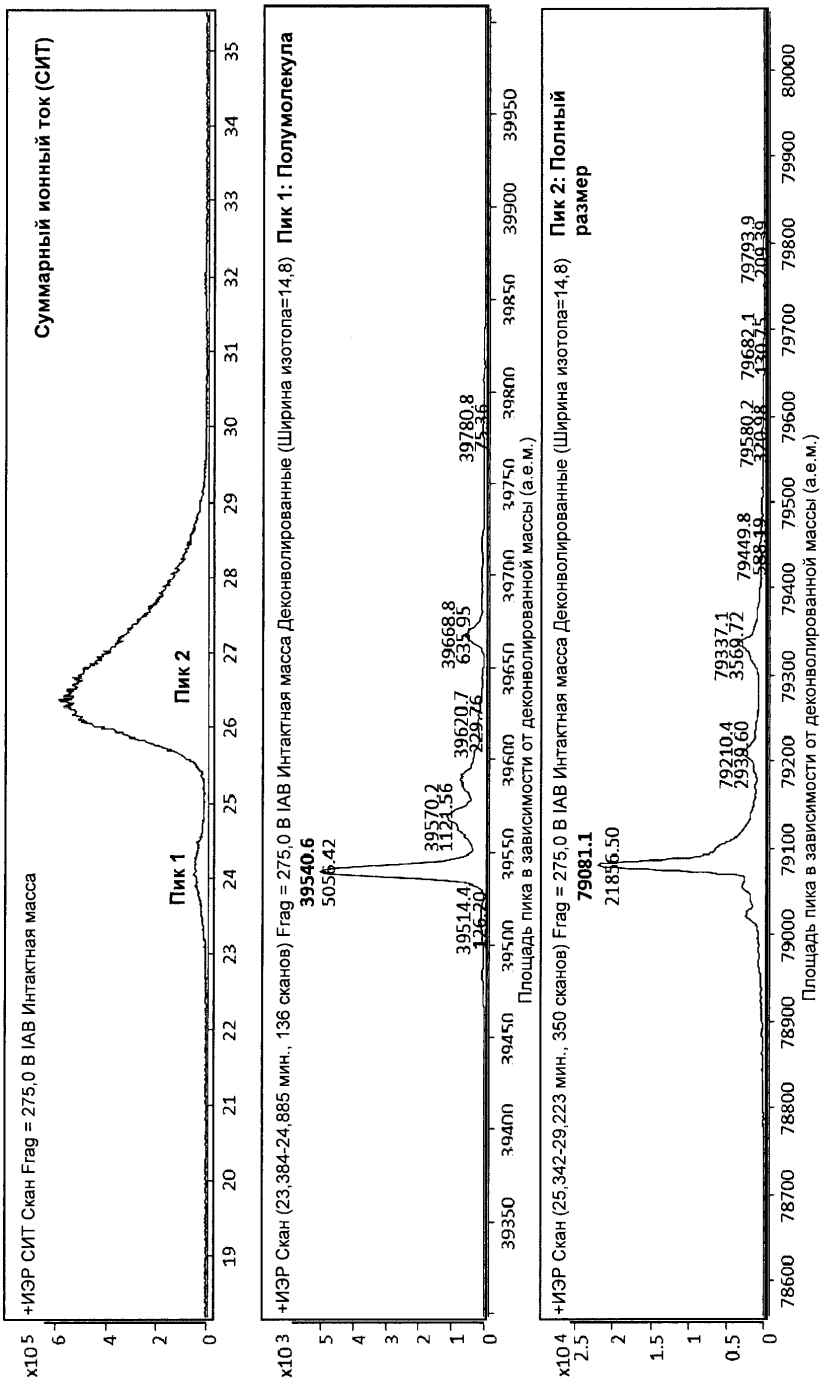
ФИГ. 23

103


Анализ интактной массы IAB22M EH3 γ1
Полный скан
Область полного размера
Область полумолекул
+MC Чип Скан (4,815-7,933 мин., 127 сканов) Frag = 175,0 В Деконволированные (Ширина изотопа=14,8)
+MC Чип Скан (4,815-7,933 мин., 127 сканов) Frag = 175,0 В За вычетом деконволированных (Ширина изотопа=14,8)
Ответ в зависимости от времени экспозиции (мин.)
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
79947.5
699875.79
39974.9
53297.5
426.19
483.63
x10^5
x10^2

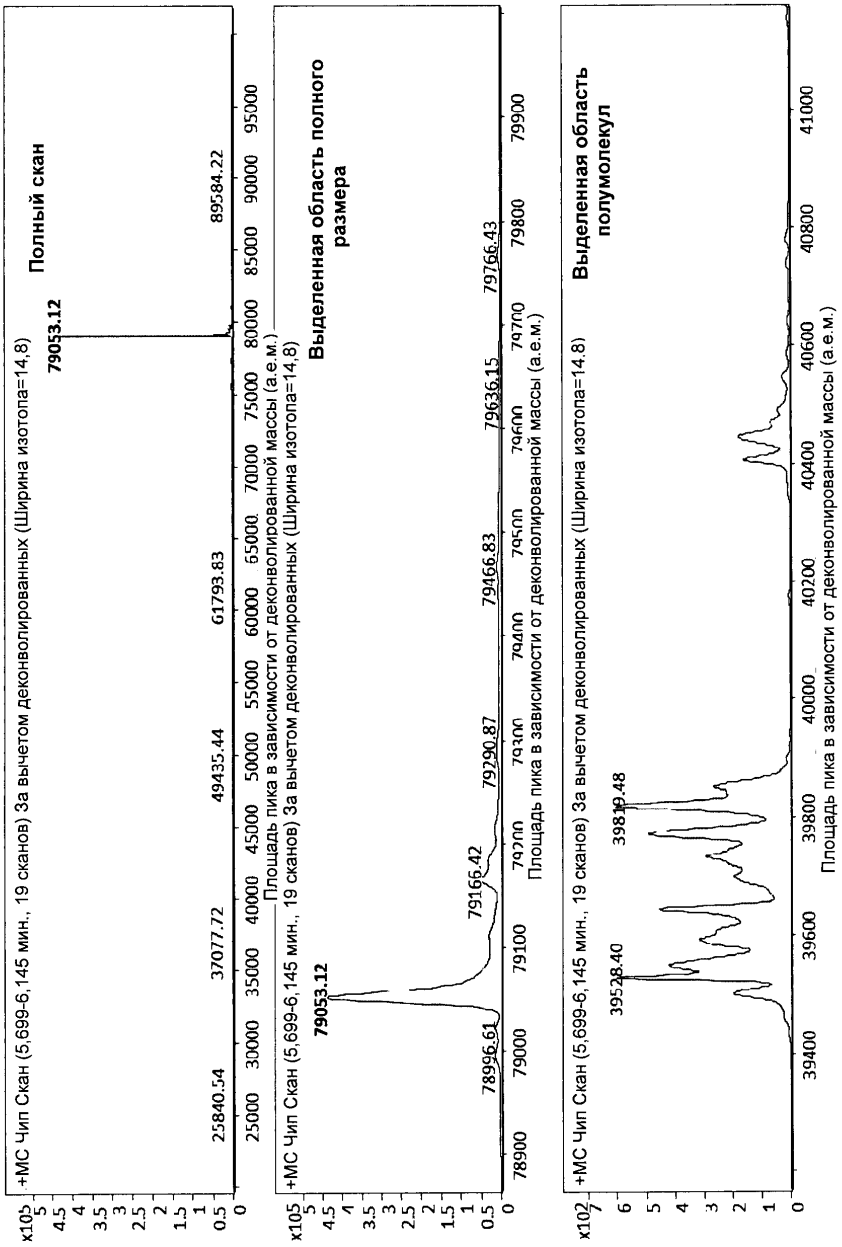
ФИГ. 24

104


Анализ интактной массы IAB22M EH1 γ2
+ИЭР СИТ Скан Frag = 275,0 В IAB Интактная масса
Суммарный ионный ток (СИТ)
Пик 1
Пик 2
+ИЭР Скан (23,384-24,885 мин., 136 сканов) Frag = 275,0 В IAB Интактная масса Деконволированные (Ширина изотопа=14,8)
Пик 1: Полумолекула
39540.6
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+ИЭР Скан (25,342-29,223 мин., 350 сканов) Frag = 275,0 В IAB Интактная масса Деконволированные (Ширина изотопа=14,8)
Пик 2: Полный размер
79081.1
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

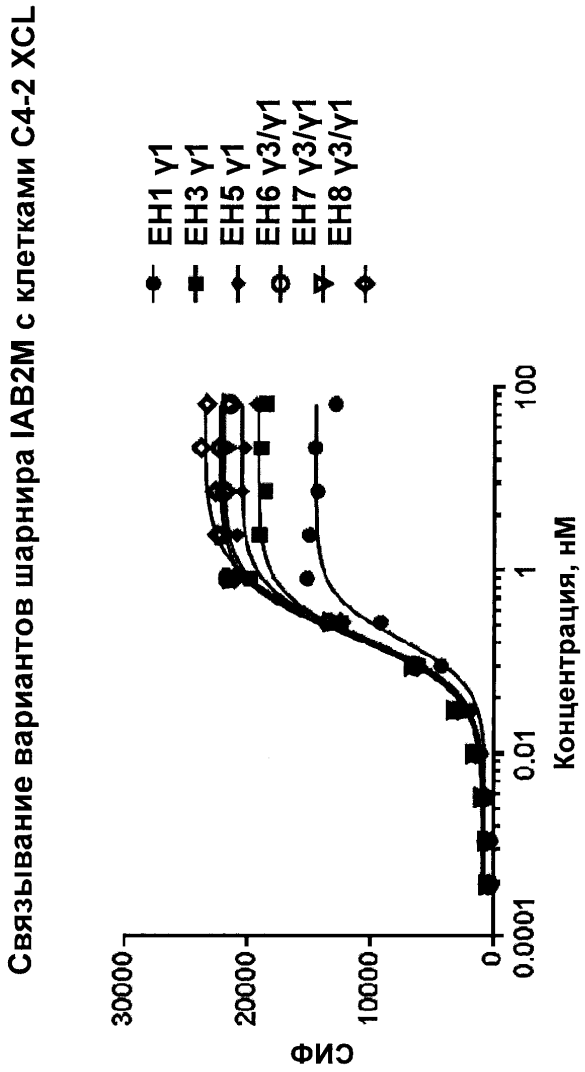
ФИГ. 25А

105


Анализ интактной массы IAB22M EH2 γ2
+MC Чип Скан (5,699-6,145 мин., 19 сканов) За вычетом деконволированных (Ширина изотопа=14,8)
Полный скан
79053.12
25840.54
37077.72
49435.44
61793.83
89584.22
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+MC Чип Скан (5,699-6,145 мин., 19 сканов) За вычетом деконволированных (Ширина изотопа=14,8)
Выделенная область полного размера
79053.12
78996.61
79166.42
79290.87
79466.83
79636.15
79766.43
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)
+MC Чип Скан (5,699-6,145 мин., 19 сканов) За вычетом деконволированных (Ширина изотопа=14.8)
Выделенная область полумолекул
39528.40
39819.48
Площадь пика в зависимости от деконволированной массы (а.е.м.)

ФИГ. 25B

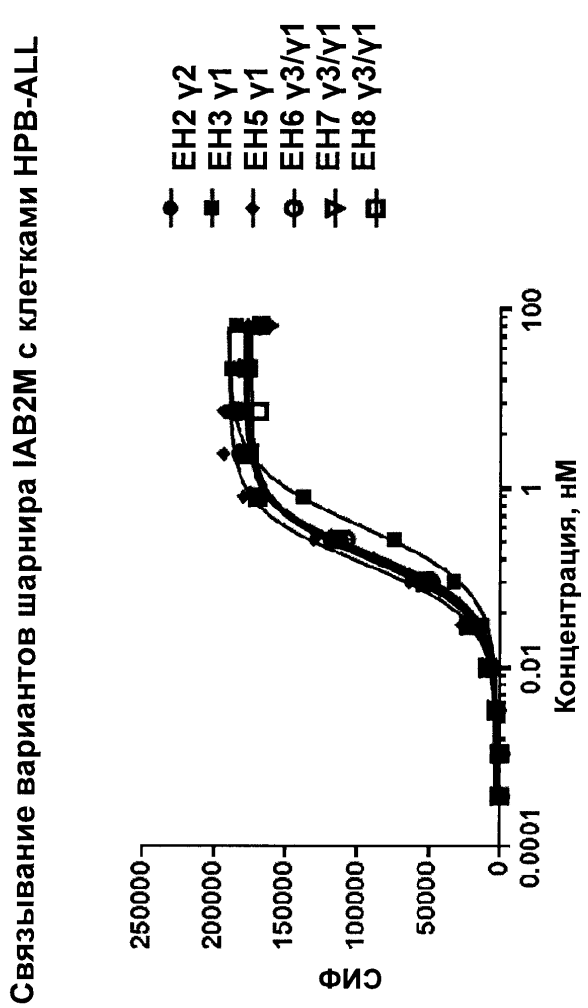
106



вариант	γ2 EH2	γ1 EH3	γ1 EH5	γ3/γ1 EH6	γ3/γ1 EH7	γ3/γ1 EH8
EC50, нМ	0.176	0.1618	0.1831	0.1876	0.1859	0.2274

ФИГ. 26

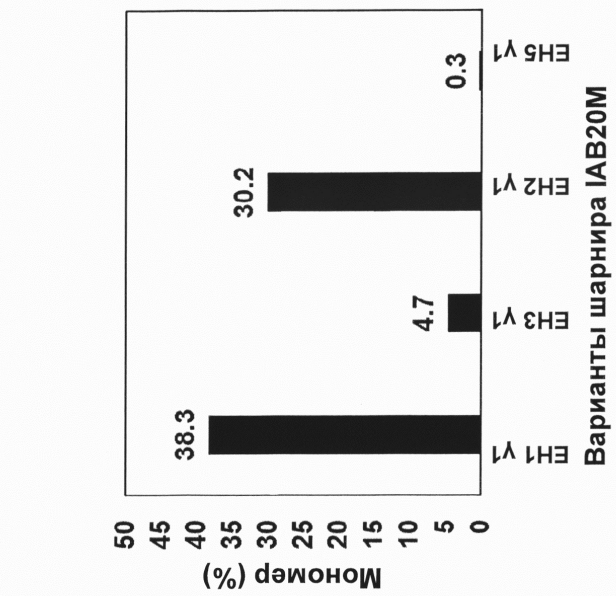
107

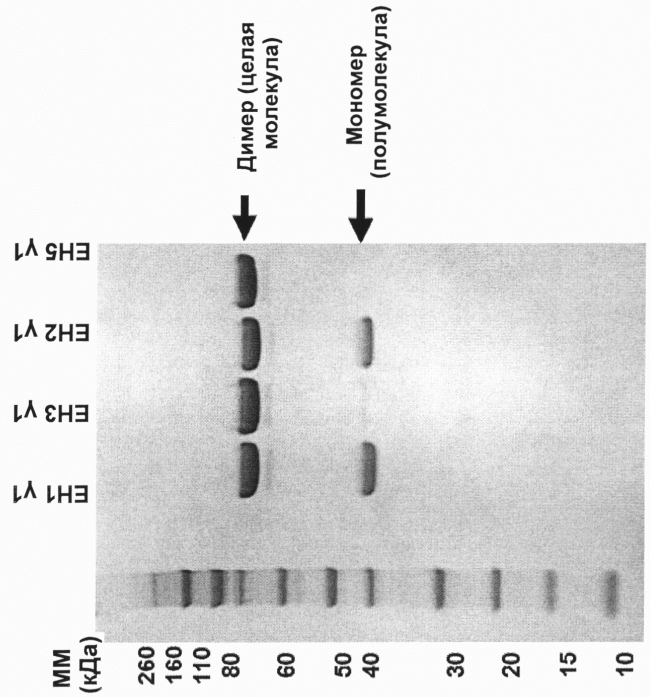


вариант	γ2 EH2	γ1 EH3	γ1 EH5	γ3/γ1 EH6	γ3/γ1 EH7	γ3/γ1 EH8
EC50, нМ	0.1561	0.3701	0.1457	0.1884	0.1701	0.1632

ФИГ. 27

108


Мономер (%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
38.3
4.7
30.2
0.3
EH1 γ1
EH3 γ1
EH2 γ1
EH5 γ1
Варианты шарнира IAB20M


Димер (целая молекула)
Мономер (полумолекула)
EH1 γ1
EH3 γ1
EH2 γ1
EH5 γ1
ММ (кДа)
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

ФИГ. 28А

109

IAB20M EH1 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против 5T4
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ
AEDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSIS
TAYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYYMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Полный шарнир (EH1)
EPKSCDKTHTCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Верхний шарнир
EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 28B

IAB20M EH3 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против 5T4
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA
EDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSIST
AYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Полный шарнир (EH3)
EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 28C

IAB20M EH2 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против 5T4
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA
EDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSIST
AYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Полный шарнир (EH2)
EPKSSDKTHTCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 24)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 28D

IAB20M EH5 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против 5T4
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE
DVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTA
YMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Полный шарнир (EH5)
EPKSSDKTHTCPPCPPCPPCGGGSGGGGSG (SEQ ID NO: 30)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

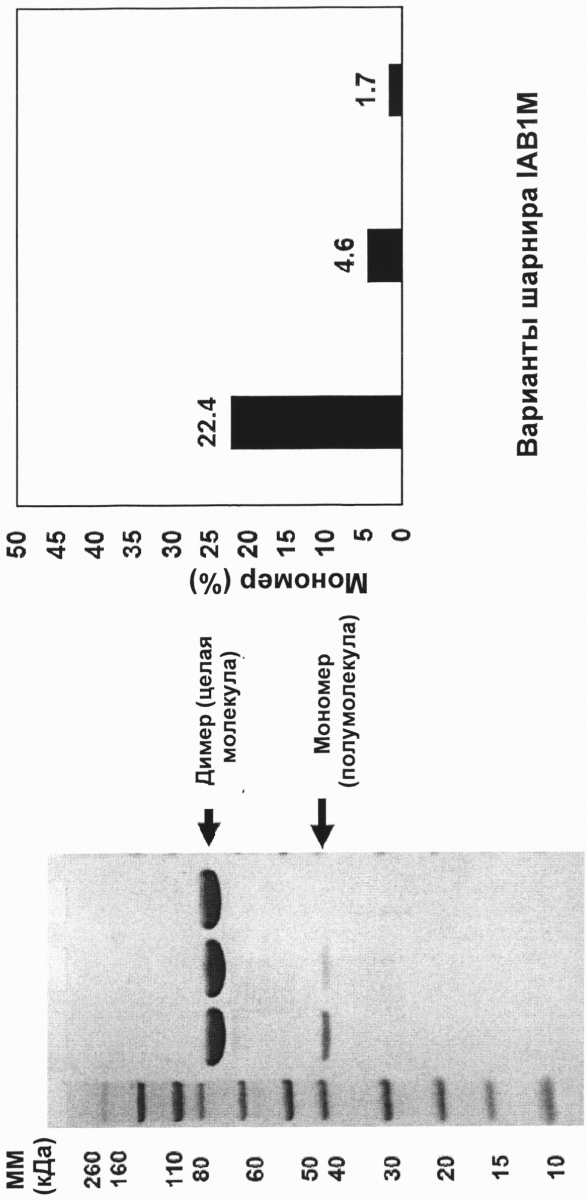
Центральный шарнир
CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 28E


ММ (кДа)
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10
Димер (целая молекула)
Мономер (полумолекула)
Мономер (%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
22.4
4.6
1.7
Варианты шарнира IAB1M

ФИГ. 29А

IAB1M EH1 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против АСКП (A11)
DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQWGSSPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против АСКП (A11)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTEFVPKFQGRATMSAD
TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 68)

Полный шарнир (EH1)
EPKSCDKTHTCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 22)

Верхний шарнир
EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)

Центральный шарнир
CPPC (SEQ ID NO: 50)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 29B

115

IAB1M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против АСКП (A11)
DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQWGSSPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против АСКП (A11)
EVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTEFVPKFQGRATMS
ADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 68)

Полный шарнир (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 29C

116

IAB1M EH3 γ1 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против АСКП (A11)
DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQWGSSPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 67)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против АСКП (A11)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTEFVPKFQGRATMSA
DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 68)

Полный шарнир (EH3)
EPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 26)

Верхний шарнир
EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)

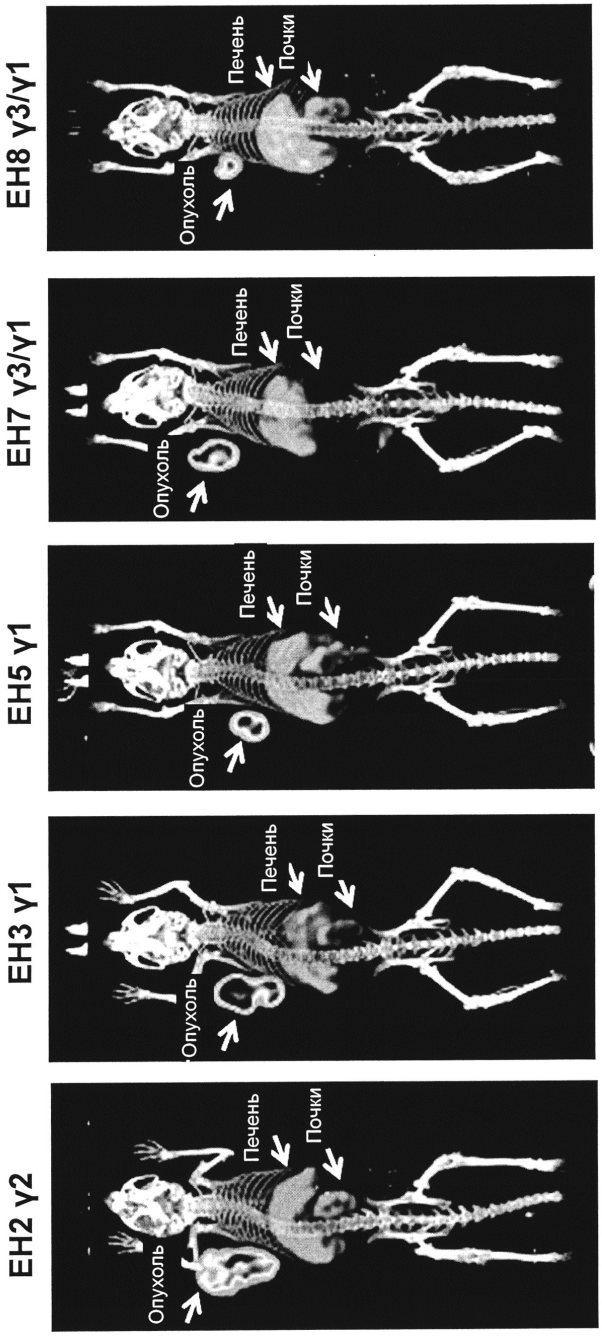
Центральный шарнир
CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

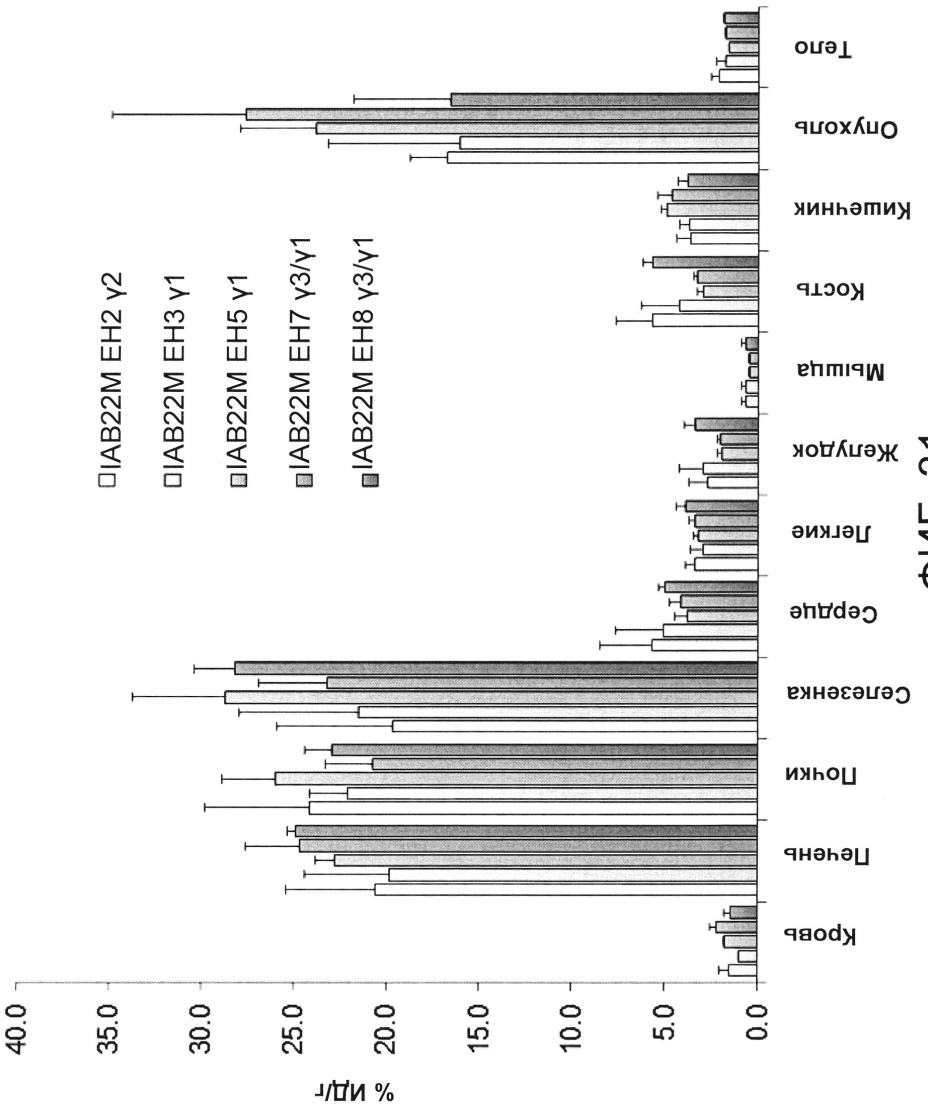
CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

ФИГ. 29D


EH2 γ2
Опухоль
Печень
Почки
EH3 γ1
Опухоль
Печень
Почки
EH5 γ1
Опухоль
Печень
Почки
EH7 γ3/γ1
Опухоль
Печень
Почки
EH8 γ3/γ1
Опухоль
Печень
Почки

ФИГ. 30


IAB22M EH2 γ2
IAB22M EH3 γ1
IAB22M EH5 γ1
IAB22M EH7 γ3/γ1
IAB22M EH8 γ3/γ1
% ИД/г
40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
Кровь
Печень
Почки
Селезенка
Сердце
Легкие
Желудок
Мышца
Кость
Кишечник
Опухоль
Тело

ФИГ. 31

IAB20M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против 5T4
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQAEDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVD
TSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 18)

Полный шарнир (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 32

120

IAB25M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против CD3
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 19)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSRGYTNYNQKFKDRVTM
TTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 20)

Полный шарнир (EH2)
ERKSCVECPPCPGGGSSGGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

ФИГ. 33

M1 = VL - VH
M2 = VH - VL

IAB2M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 162)

gatattgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc
attacctgcaaagcgagccaggatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccg
ggcaaagcgcccgaaactgctgatttatttgggcgagcacccgccataccggcgtgccggat
cgctttaccggcagcggcagcggcaccgatttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagattttgcggattatttttgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggc
ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcgcggcagcggcgcagcggcggc
ggcggcggcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggc
gcgagcgtgaaaattagctgcaaaaccagcggctataccttttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacaggcgagcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaac
ggcggcaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgcgacccctgaccgtggataaaagc
accagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgcgcggcggctggaactttgattattgggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagc
gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgcgtgcggcggcggc
agcagcggcggcggcagcggcggccagcgccgcgcgaaccgcgcaggtgtataccctgccgccg
agccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggctttttat
ccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacgggccagccggaaaacaactataaaacc
acccccgccggtgctggatagcgatggcagcttttttctgtatagcaaactgaccgtggat
aaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcat
aaccattatacccagaaaaagcctgagcctgagcccgggc **(SEQ ID NO: 162)**

ФИГ. 34А

122

IAB2M EH5 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 163)

gatattgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc
attacctgcaaagcgagccaggatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccg
ggcaaagcgccgaaactgctgatttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggat
cgctttaccggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagatttgcggattatttttgccagcagtataacagctatccgctgaccttttggcggc
ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcgggcgcagcggcgcaggcgggc
ggcggcggcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggc
gcgagcgtgaaaattagctgcaaaaccagcggctataccttttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacaggcgagcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaac
ggcggcaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagc
accagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgcgcggcgggctggaactttgattattgggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagc
gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcccgccgtgc
ggcggcggcagcagcggcggcgcggcgcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtatacc
ctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaa
ggctttatccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacgggccagccggaaaacaac
tataaaaccacccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactg
accgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaa
gcgctgcataaccattataccccagaaaagcctgagcctgagccccgggc **(SEQ ID NO: 163)**

ФИГ. 34В

123

IAB2M EH8 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 164)

gatattgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc
attacctgcaaagcgagccaggatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccg
ggcaaagcgcccgaaactgctgatttatttgggcgagcacccgccataccggcgtgccggat
cgctttaccggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccg
gaagattttgcggattattttgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggc
ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcgggcagcggcgcagcgggc
ggcggcggcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggc
gcgagcgtgaaaattagctgcaaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcat
tgggtgaaacaggcgagcggcaaaggcctgggaatggattggcaacattaacccgaacaac
ggcggcaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgcgacccctgaccgtggataaaagc
accagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat
tgcgcggcgggctggaactttgattattgggccaggcaccaccgtgaccgtgagcagc
gaactgaaaaccccgctgggcgataccacccatacctgcccgccgtgcccgtgcccg
ccgtgcggcggcggcagcagcggcgggcagcggccagccgcgcgaaccgcaggtg
tataccctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctg
gtgaaaggctttatccgagcgatattgcggtgggaatgggaaagcaacgggccagccggaa
aacaactataaaaccacccccgccgtgctggatagcgatggcagcttttttctgtatagc
aaactgaccgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatg
catgaagcgctgcataaccattataccccagaaaagcctgagcctgagccccgggc **(SEQ ID NO: 164)**

ФИГ. 34С

IAB2M EH3 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 165)

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaccagcggctataccttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg
agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcggcaccacctat
aaccagaaatttgaaagatcgcgcgacccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat
atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg
aactttgattattgggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc
ggcggcagcggcggcgcagcggcggcgcagcagcgatattgtgatgacccagagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag
gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctg
attattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgatttttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagatttttgcggattatttt
tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggcgcaccaaactggaaattaaa
gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcggcgcggc
agcagcggcggcgcggcagcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccg
agccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggctttttat
ccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccgggaaaacaactataaaacc
acccccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactgaccgtggat
aaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcat
aaccattataccccagaaaaagcctgagcccgggc **(SEQ ID NO: 165)**

ФИГ. 34D

125

IAB2M EH5 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 5)

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaccagcggctataccttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg
agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacgggcggcaccacctat
aaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat
atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg
aactttgattattgggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc
ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcagcagcgatattgtgatgacccagagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag
gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctg
atttattgggcgagcaccgccgccatacccggcgtgccgggatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgatttttacccctgaccattagcagcctgcagccggaagatttttgcggattatttt
tgccagcagtataacagctatccgctgaccttttggcgcggcgcaccaaactggaaattaaa
gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcccgccgtgc
ggcggcggcagcagcggcggcggcagcggccagccgcgcgaaccgcgcaggtgtatacc
ctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaa
ggctttatccgagcgatattgcggtggtgggaatgggaaagcaacgggccagccggaaaacaac
tataaaaccacccccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaaactg
accgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaa
gcgctgcataaccattatacccagaaaagcctgagcctgagccccgggc **(SEQ ID NO: 5)**

ФИГ. 34E

126

IAB2M EH8 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 6)

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt
agctgcaaaaccagcggctataccttttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg
agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcggcaccacctat
aaccagaaatttgaagatcgcgcgacccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat
atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg
aactttgattattgggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc
ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcagcagcgatattgtgatgacccagagc
ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag
gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgcccgaaactgctg
atttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc
ggcaccgatttttacccctgaccattagcagcctgcagccggaagatttttgcggattatttt
tgccagcagtataacagctatccgctgaccttttggcggcggcaccaaaactggaaattaaa
gaactgaaaaccccgctgggcgataccacccatacctgcccgccgtgcccgtgcccg
ccgtgcggcggcggcagcagcggcggcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtg
tataccctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctg
gtgaaaggctttttatccgagcgatattgcggtgggaatgggaaagcaacgggccagccggaa
aacaactataaaaccacccccgccgtgctggatagcgatggcagctttttttctgtatagc
aaactgaccgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatg
catgaagcgctgcataaccattataccccagaaaagcctgagcctgagccccgggc **(SEQ ID NO: 6)**

ФИГ. 34F

M1 = VL - VH
M2 = VH - VL

Линкеры
Шарниры

IAB2M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 7)
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTSGGGSGGGGSGGGGSSEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTS
GYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG
WNFDYWGQGTTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG **(SEQ ID NO: 7)**

IAB2M EH5 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 8)
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTSGGGSGGGGSGGGGSSEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTS
GYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG
WNFDYWGQGTTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG **(SEQ ID NO: 8)**

ФИГ. 35А

IAB2M EH8 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 9)
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKGSTSGGGSGGGGSGGGGSSEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTS
GYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG
WNFDYWGQGTTVTVSSELKTPLGDTTHTCPPCPPCPGGGSSGGGSGGGSGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPG **(SEQ ID NO: 9)**

IAB2M EH3 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 10)
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKS
TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSSGSTSGGGSGGGGSGGGGSSDIVMTQSPSSLSASV
GDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQ
QYNSYPLTFGGGTKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPPCPGGGSSGGGSGGGSGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG **(SEQ ID NO: 10)**

ФИГ. 35В

IAB2M EH5 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 11)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKS
TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGSSDIVMTQSPSSLSASV
GDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQ
QYNSYPLTFGGGTKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPPCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG **(SEQ ID NO: 11)**

IAB2M EH8 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 12)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKS
TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTTVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGSSDIVMTQSPSSLSASV
GDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQ
QYNSYPLTFGGGTKLEIKELKTPLGDTTHTCPPCPPCPPCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPG **(SEQ ID NO: 12)**

ФИГ. 35C

130

Домены VH и VL

Последовательности вариабельной области легкой (VL) и тяжелой цепи (VH) IAB2M

VL
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRH
TGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPLTFGGGTKLEIK
(SEQ ID NO: 13)

VH
EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQASGKGLEWIGNINPNN
GGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTT
VTVSS **(SEQ ID NO: 14)**

ФИГ. 36А

131

Последовательности вариабельной области легкой (VL) и тяжелой цепи (VH) IAB22M

VL
DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKPGKVPKLLIYSGSTL
QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 15)

VH
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDPA
NDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFDHW
GQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 16)**

ФИГ. 36В

Последовательности вариабельной области легкой (VL) и тяжелой цепи (VH) IAB20M

VL
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSR
YAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 17)

VH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPN
NGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMD
YWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 18)**

ФИГ. 36С

Последовательности вариабельной области легкой (VL) и тяжелой цепи (VH) антитела против CD3

VL
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLA
SGVPAHFRGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 19)

VH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPS
RGYTNYNQKFKDRVTMTTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARYYDDHYSLDY
WGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 20)**

ФИГ. 36D

134

VL
DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWGSSPFTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 67)

VH
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYYIHWVRQAPGKGLEWVAWIDPE
NGDTEFVPKFQGRATMSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCKTGGFWGQGTLV
TVSS **(SEQ ID NO: 68)**

ФИГ. 36Е

GGGGS 5 АК (SEQ ID NO: 66)
GGGGSGGGGS 10 АК (SEQ ID NO: 65)
GGGGSGGGGSGGGGS 15 АК (SEQ ID NO: 64)
GSTSGGGSGGGS 12 АК (SEQ ID NO: 63)
GSTSGGGSGGGGSGGGGSS 18 АК (SEQ ID NO: 62)

ФИГ. 37

Полный шарнир:	Верхний	Центральный	Нижний
NH1 IgG1 человека (SEQ ID NO: 21)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH1 IgG1 человека (SEQ ID NO: 22)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 45)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH2 IgG1 человека (SEQ ID NO: 23)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH2 IgG1 человека (SEQ ID NO: 24)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPC (SEQ ID NO: 50)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH3 IgG1 человека (SEQ ID NO: 25)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH3 IgG1 человека (SEQ ID NO: 26)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH4 IgG1 человека (SEQ ID NO: 27)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH4 IgG1 человека (SEQ ID NO: 28)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCVECPPC (SEQ ID NO: 53)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH5 IgG1 человека (SEQ ID NO: 29)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	APELLGGP (SEQ ID NO: 58)
EH5 IgG1 человека (SEQ ID NO: 30)	EPKSSDKTHT (SEQ ID NO: 46)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

ФИГ. 38

137

Полный шарнир:	Верхний	Центральный	Нижний
NH1 IgG2 человека (SEQ ID NO: 31)	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)
EH1 IgG2 человека (SEQ ID NO: 32)	ERK (SEQ ID NO: 47)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 55)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH2 IgG2 человека (SEQ ID NO: 33)	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	APPVAGP (SEQ ID NO: 60)
EH2 IgG2 человека (SEQ ID NO: 34)	ERK (SEQ ID NO: 47)	SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
EH6 IgG3/IgG1 (SEQ ID NO: 35)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CVECPPC (SEQ ID NO: 57)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
EH7 IgG3/IgG1 (SEQ ID NO: 36)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPC (SEQ ID NO: 52)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
EH8 IgG3/IgG1 (SEQ ID NO: 37)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48)	CPPCPPCPPC (SEQ ID NO: 54)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)
NH IgG4 (SEQ ID NO: 38)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 49)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	APEFLGGP (SEQ ID NO: 61)
EH IgG4 (SEQ ID NO: 39)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 49)	CPPCP (SEQ ID NO: 51)	GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

ФИГ. 38 продолжение

Домены CH3:

CH3 IgG1 человека (аллотип G1m1)
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 40)

CH3 IgG1 человека (аллотип nG1m1)
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

CH3 IgG3 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 43)

CH3 IgG4 человека
GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 44)

ФИГ. 39

139

Выравнивание, сравнивающее IAB22M EH1 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 105) с IAB22M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 106), различия показаны в прямоугольниках

IAB22M EH1 γ1 (M1) METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKP 60

IAB22M EH3 γ1 (M1) METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRTSRSISQYLAWYQQKP 60

IAB22M EH1 γ1 (M1) GKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGG 120

IAB22M EH3 γ1 (M1) GKVPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQHNENPLTFGG 120

IAB22M EH1 γ1 (M1) GTKVEIKGSTSGGGSGGGSGGGGSSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH 180

IAB22M EH3 γ1 (M1) GTKVEIKGSTSGGGSGGGSGGGGSSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH 180

IAB22M EH1 γ1 (M1) FVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY 240

IAB22M EH3 γ1 (M1) FVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNTLYASKFQGKATISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY 240

IAB22M EH1 γ1 (M1) CGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSSEPKS C DKTHTCP --- PCGGGSSGGGSGGQPREPQVYT 297

IAB22M EH3 γ1 (M1) CGRGYGYYVFDHWGQGTLVTVSSEPKS S DKTHTCP PCP PCGGGSSGGGSGGQPREPQVYT 300

IAB22M EH1 γ1 (M1) LPPSR DEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL 357

IAB22M EH3 γ1 (M1) LPPSR EEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL 360

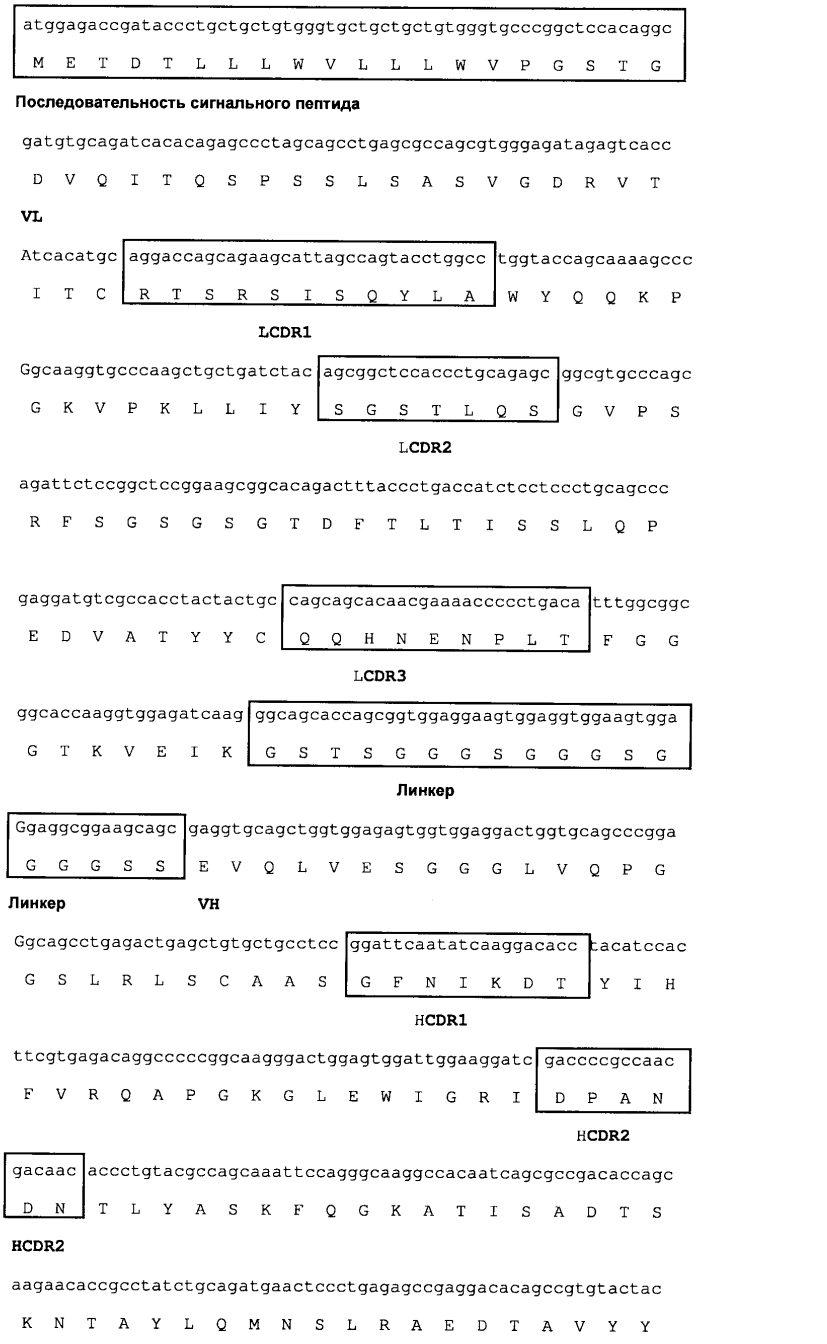
IAB22M EH1 γ1 (M1) TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K 394 **(SEQ ID NO: 105)**

IAB22M EH3 γ1 (M1) TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG - 396 **(SEQ ID NO: 106)**

ФИГ. 40

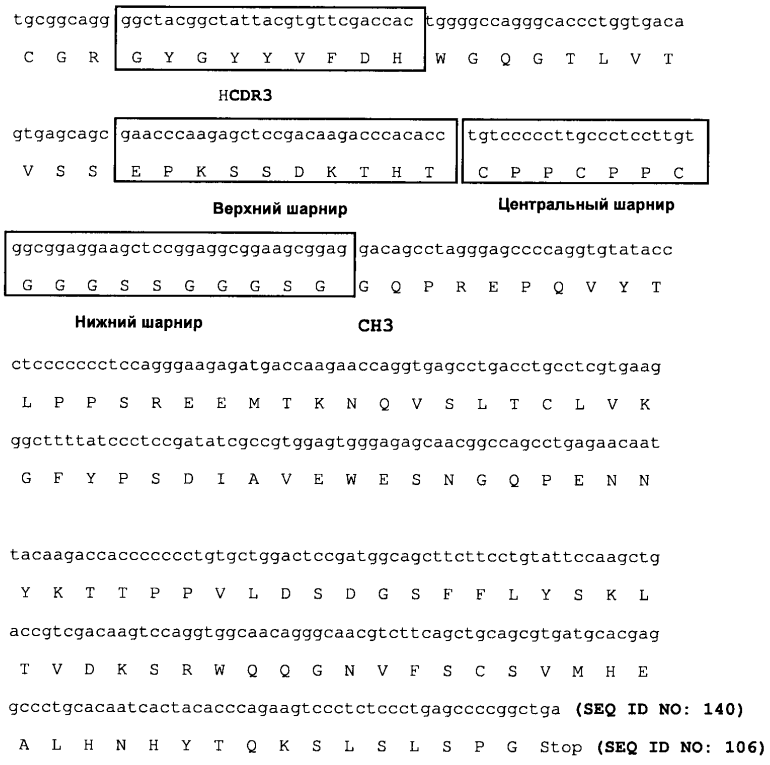
140

IAB22M EH3 γ1 (M1), участки CDR определены согласно определению Чотия (SEQ ID NO: 106)



ФИГ. 41

141



ФИГ. 41
продолжение

142

IAB22M EH5 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 107)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggatccaccgga

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gacgtgcagatcacacagagccccagctccctgtccgctagcgtgggcgacagagtgacc

D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T

atcacctgcaggaccagcaggagcatctcccagtacctcgcttggtaccagcagaagcct

I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P

ggcaaggtgcccaagctgctgatttacagcggatccaccctgcagagcggcgtgcctagc

G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S

aggtttagcggcagcggatccggaacagacttcaccctgaccatcagcagcctgcagcct

R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P

gaagatgtggccacctactactgtcagcagcacaacgaaaaccccctcaccttcggcggc

E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G

ggcacaaaggtggaaatcaagggcagcacctccggaggaggcagcggcggaggcagcgga

G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G

ggcggcggctccagcgaagtgcagctggtcgagagcggaggcggactggtgcaacccgga

G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G

ggaagcctgaggctgagctgtgccgccagcggcttcaacatcaaggacacatacattcac

G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H

tttgtgaggcaggctcctggaaagggcctggagtggatcggcagaatcgaccccgctaac

F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N

gacaacaccctgtacgccagcaagttccagggcaaggccaccatctccgccgacacaagc

D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S

aagaataccgcctacctgcagatgaactccctgagggccgaggataccgccgtgtactac

K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y

tgcggcaggggctatggctactacgtgtttgaccactggggccagggcacactggtgaca

C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T

gtgagctccgagcccaagagctccgacaagacacacacctgccctccttgccccccttgt

V S S E P K S S D K T H T C P P C P P C

cctccctgtggaggaggaagcagcggaggaggaagcggcggacagcccagagagcctcaa

P P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q

gtgtataccctgccccccctccagggaagagatgaccaagaaccaggtgagcctgacatgc

V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C

ctggtcaaaggcttctaccccagcgatattgctgtggagtgggagagcaacggccagccc

L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P

gagaacaactacaagaccacacccccgtcctggatagcgatggcagcttcttcctgtac

ФИГ. 42

143

E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y

agcaagctgaccgtggacaagtccaggtggcagcagggcaacgtcttctcctgcagcgtg

S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V

atgcacgaggctctgcataaccactacacacagaagtccctcagcctgagccctggatga **(SEQ ID NO: 141)**

M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 107)**

ФИГ. 42
продолжение

IAB22M EH7 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 108)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggatccaccgga

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gacgtgcagatcacacagagccccagctccctgtccgctagcgtgggcgacagagtgacc

D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T

atcacctgcaggaccagcaggagcatctcccagtacctcgcttggtaccagcagaagcct

I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P

ggcaaggtgcccaagctgctgatttacagcggatccaccctgcagagcggcgtgcctagc

G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S

aggtttagcggcagcggatccggaacagacttcaccctgaccatcagcagcctgcagcct

R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P

gaagatgtggccacctactactgtcagcagcacaacgaaaacccccctcaccttcggcggc

E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G

ggcacaaaggtggaaatcaagggcagcacctccggaggaggcagcggcggaggcagcgga

G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G

ggcggcggctccagcgaagtgcagctggtcgagagcggaggcggactggtgcaacccgga

G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G

ggaagcctgaggctgagctgtgccgccagcggcttcaacatcaaggacacatacattcac

G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H

tttgtgaggcaggctcctggaaagggcctggagtggatcggcagaatcgaccccgctaac

F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N

gacaacaccctgtacgccagcaagttccagggcaaggccaccatctccgccgacacaagc

D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S

aagaataccgcctacctgcagatgaactccctgagggccgaggataccgccgtgtactac

K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y

tgcggcaggggctatggctactacgtgtttgaccactggggccagggcacactggtgaca

C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T

gtgagctccgagctgaagacacctctgggcgacacaacacacacctgccccccttgtcct

V S S E L K T P L G D T T H T C P P C P

ccctgtggaggaggaagcagcggaggaggaagcggcggacagcccagagagcctcaagtg

P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V

tataccctgccccccctccagggaagagatgaccaagaaccaggtgagcctgacatgcctg

Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L

gtcaaaggcttctaccccagcgatattgctgtggagtgggagagcaacggccagcccgag

V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E

aacaactacaagaccacacccccgtcctggatagcgatggcagcttcttcctgtacagc

N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S

ФИГ. 43

145

aagctgaccgtggacaagtccaggtggcagcagggcaacgtcttctcctgcagcgtgatg

K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M

cacgaggctctgcataaccactacacacagaagtccctcagcctgagccctggatga **(SEQ ID NO: 142)**

H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 108)**

ФИГ. 43
продолжение

IAB22M EH8 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 109)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggatccaccgga

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gacgtgcagatcacacagagccccagctccctgtccgctagcgtgggcgacagagtgacc

D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T

atcacctgcaggaccagcaggagcatctcccagtacctcgcttggtaccagcagaagcct

I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P

ggcaaggtgcccaagctgctgatttacagcggatccaccctgcagagcggcgtgcctagc

G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S

aggtttagcggcagcggatccggaacagacttcaccctgaccatcagcagcctgcagcct

R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P

gaagatgtggccacctactactgtcagcagcacaacgaaaaccccctcaccttcggcggc

E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G

ggcacaaaggtggaaatcaagggcagcacctccggaggaggcagcggcggaggcagcgga

G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G

ggcggcggctccagcgaagtgcagctggtcgagagcggaggcggactggtgcaacccgga

G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G

ggaagcctgaggctgagctgtgccgccagcggcttcaacatcaaggacacatacattcac

G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H

tttgtgaggcaggctcctggaaagggcctggagtggatcggcagaatcgaccccgctaac

F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N

gacaacaccctgtacgccagcaagttccagggcaaggccaccatctccgccgacacaagc

D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S

aagaataccgcctacctgcagatgaactccctgagggccgaggataccgccgtgtactac

K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y

tgcggcaggggctatggctactacgtgtttgaccactggggccagggcacactggtgaca

C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T

gtgagctccgagctgaagacacctctgggcgacacaacacacacctgccctccttgcccc

V S S E L K T P L G D T T H T C P P C P

ccttgtcctccctgtggaggaggaagcagcggaggaggaagcggcggacagcccagagag

P C P P C G G G S S G G G S G G Q P R E

cctcaagtgtataccctgccccctccagggaagagatgaccaagaaccaggtgagcctg

P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L

acatgcctggtcaaaggcttctaccccagcgatattgctgtggagtgggagagcaacggc

T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G

cagcccgagaacaactacaagaccacacccccgtcctggatagcgatggcagcttcttc

Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F

ФИГ. 44

147

ctgtacagcaagctgaccgtggacaagtccaggtggcagcagggcaacgtcttctcctgc

L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C

agcgtgatgcacgaggctctgcataaccactacacacagaagtccctcagcctgagccct

S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P

ggatga **(SEQ ID NO: 143)**

G Stop **(SEQ ID NO: 109)**

ФИГ. 44
продолжение

148

IAB22M EH2 γ2 (M1) (SEQ ID NO: 110)

atggaaaccgacacactgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtccctggctccaccgga

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gacgtccagatcacacagagccccagcagcctgtccgccagcgtgggagacagggtgacc

D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T

atcacctgcaggaccagcagatccatctcccagtatctggcctggtaccaacagaagccc

I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P

ggcaaggtccccaaactgctgatctacagcggctccaccctgcagtccggcgtgcctagc

G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S

aggttctccggcagcggatccggcaccgacttcaccctgaccatcagctccctgcagcct

R F S G S G S G S G T D F T L T I S S L Q P

gaggacgtggctacctactactgccaacagcacaacgagaacccccctgacctttggaggc

E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G

ggcaccaaggtggaaatcaagggcagcaccagcggcggaggaagcggaggaggatccgga

G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G

ggaggcggaagctccgaggtgcagctggtggaaagcggcggcggactggtgcagcctgga

G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G

ggaagcctcagactgagctgtgccgccagcggattcaacatcaaagacacctacattcat

G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H

ttcgtgagacaggcccccggcaagggcctcgaatggatcggaaggatcgaccccgctaac

F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N

gacaataccctgtacgcctccaagttccagggaaaggccaccatctccgccgatacctcc

D N T L Y A S K F Q G K A T I S A D T S

aagaacaccgcctacctccagatgaactccctgagggccgaagataccgccgtctactac

K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y

tgtggcaggggctacggctactatgtgttcgatcactggggccaaggaaccctggtgacc

C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T

gtgagcagcgaaaggaagagctgcgtggagtgtcctccttgtcccggcggcggctccagc

V S S E R K S C V E C P P C P G G G S S

ggcggaggctccggcggccagcctagagaacctcaggtgtacaccctccccccctccaga

G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P S R

gaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggtgaaaggcttctatcccagc

E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S

gacatcgccgtggaatgggagtccaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccct

D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P

cccatgctggattccgacggcagctttttcctgtacagcaagctcaccgtggacaagagc

P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S

ФИГ. 45

149

agatggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggctctgcataaccac

R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H

tacacccagaagagcctgtccctgtcccccggatga **(SEQ ID NO: 144)**

Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 110)**

ФИГ. 45
продолжение

150

IAB22M EH2 γ2 (M1) (VH-K67R) (SEQ ID NO: 111)

atggagaccgacaccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtgcctggaagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gatgtgcagatcacccagagccctagcagcctgtccgcttccgtgggcgacagggtgacc

D V Q I T Q S P S S L S A S V G D R V T

atcacctgtaggacctccaggagcatctcccagtacctggcctggtaccagcagaagccc

I T C R T S R S I S Q Y L A W Y Q Q K P

ggcaaggtgcccaaactgctcatctactccggcagcacactccagagcggcgtccctagc

G K V P K L L I Y S G S T L Q S G V P S

agattcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagctccctgcagccc

R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P

gaggacgtggccacctattactgtcagcagcacaacgaaaaccccctgaccttcggcggc

E D V A T Y Y C Q Q H N E N P L T F G G

ggcacaaaagtggagatcaagggcagcaccagcggaggcggatccggcggcggcagcggc

G T K V E I K G S T S G G G S G G G S G

ggcggaggatccagcgaagtgcagctggtcgaaagcggaggcggactggtgcagcctgga

G G G S S E V Q L V E S G G G L V Q P G

ggaagcctgagactcagctgcgccgcctccggattcaacatcaaggacacctacatccac

G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H

ttcgtgaggcaggctcccggcaaaggcctcgagtggattggaaggattgaccccgccaac

F V R Q A P G K G L E W I G R I D P A N

gacaacaccctgtacgccagcaagttccaaggaagggccaccatctccgccgacaccagc

D N T L Y A S K F Q G R A T I S A D T S

aagaataccgcctacctgcagatgaactccctgagggctgaggacaccgccgtgtactac

K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y

tgcggcagaggctacggctactacgtgttcgaccactggggacagggcacactggtgaca

C G R G Y G Y Y V F D H W G Q G T L V T

gtgagcagcgagaggaaaagctgcgtggagtgcccccctgccctggcggcggcagctcc

V S S E R K S C V E C P P C P G G G S S

ggcggaggaagcggaggacaacccagggagccccaggtgtacacactccccctagcagg

G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P S R

gaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctcgtgaagggattctaccccagc

E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S

gacattgccgtcgagtgggagagcaacggccagcctgagaacaactacaagacaaccccc

D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P

cctatgctcgatagcgatggctccttcttcctgtactccaagctcaccgtcgacaagagc

P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S

ФИГ. 46

151

aggtggcagcagggcaacgtcttctcctgtagcgtgatgcacgaggctctgcacaaccac

R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H

tacacccagaagagcctgagcctgagccccggctga **(SEQ ID NO: 145)**

Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 111)**

ФИГ. 46
продолжение

152

Выравнивание, сравнивающее IAB2M EH1 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 112) с IAB2M EH3 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 113), различия показаны в прямоугольниках

IAB2M EH1 γ1 (M2) METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQA 60

IAB2M EH3 γ1 (M2) METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQA 60

IAB2M EH1 γ1 (M2) SGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGW 120

IAB2M EH3 γ1 (M2) SGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGW 120

IAB2M EH1 γ1 (M2) NFDYWGQGTTVTVSSGSTSGGSGSGGGSGGSSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ 180

IAB2M EH3 γ1 (M2) NFDYWGQGTTVTVSSGSTSGGSGSGGGSGGSSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQ 180

IAB2M EH1 γ1 (M2) DVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYF 240

IAB2M EH3 γ1 (M2) DVGTAVDWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYF 240

IAB2M EH1 γ1 (M2) CQQYNSYPLTFGGGTKLEIKEPKS[C|DKTHTCP|---]PCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPP 297

IAB2M EH3 γ1 (M2) CQQYNSYPLTFGGGTKLEIKEPKS[S|DKTHTCP|PCP]PCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPP 300

IAB2M EH1 γ1 (M2) SR[DEL]TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD 357

IAB2M EH3 γ1 (M2) SR[EEM]TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD 360

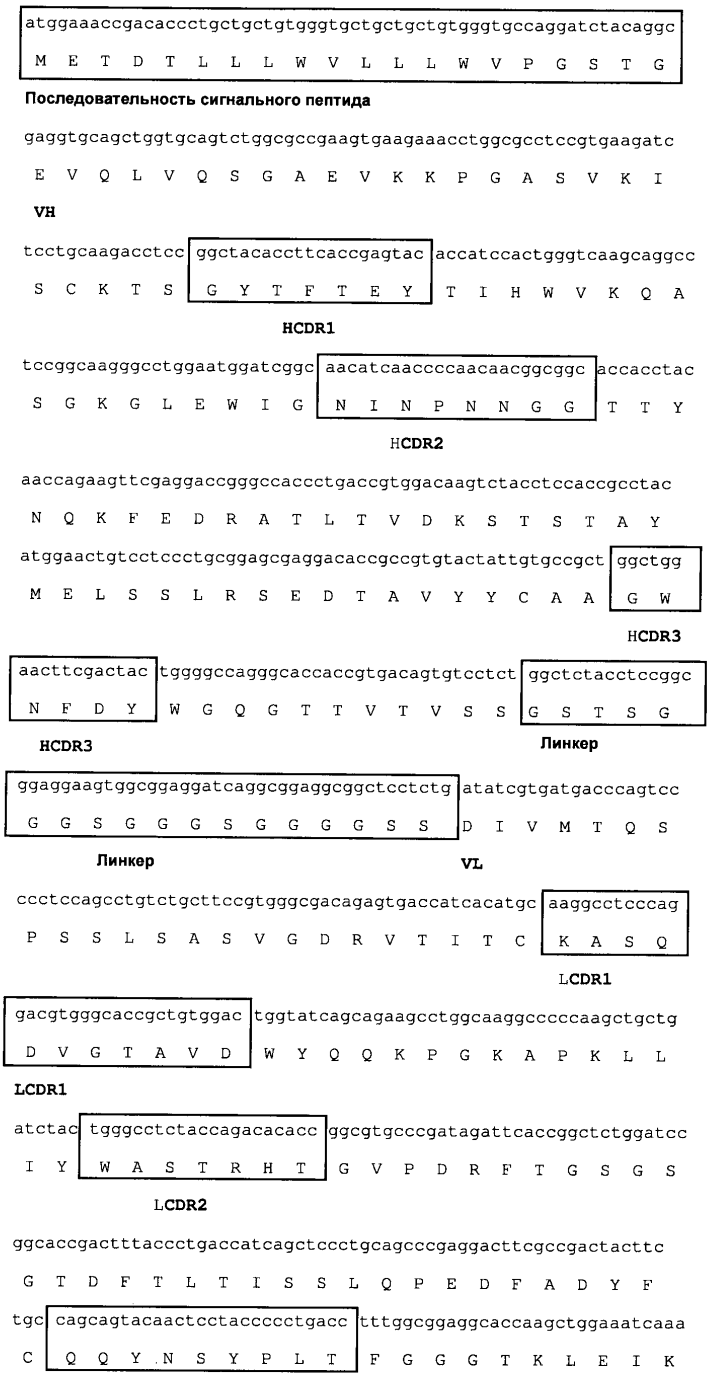
IAB2M EH1 γ1 (M2) KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG[K] 391 **(SEQ ID NO: 112)**

IAB2M EH3 γ1 (M2) KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG[-] 393 **(SEQ ID NO: 113)**

ФИГ. 47

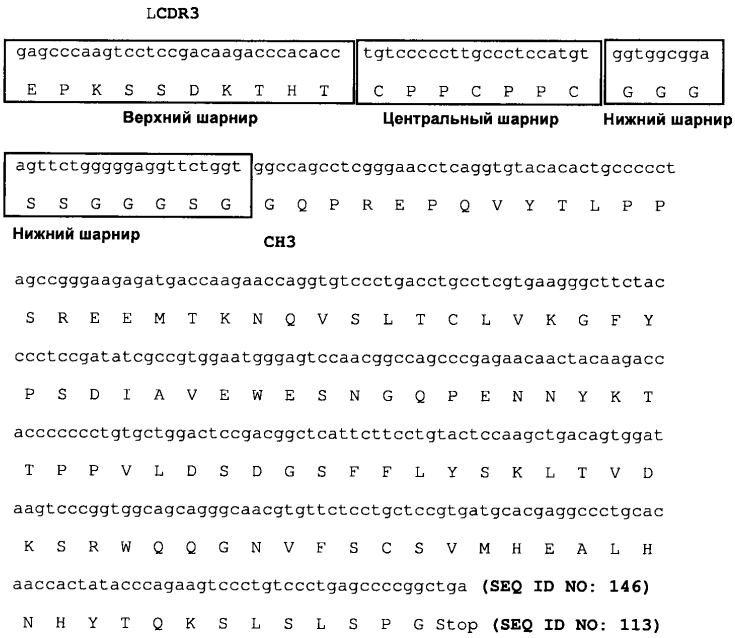
153

IAB2M EH3 γ1 (M2), участки CDR определены согласно определению Чотия (SEQ ID NO: 113)



ФИГ. 48

154



ФИГ. 48
продолжение

155

IAB2M EH3 γ1 (M2) (аллотип G1m1) (SEQ ID NO: 114)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt

E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I

agctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg

S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A

agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcggcaccacctat

S G K G L E W I G N I N P N N G G T T Y

aaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat

N Q K F E D R A T L T V D K S T S T A Y

atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg

M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W

aactttgattattggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc

N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G

ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcagcagcgatattgtgatgacccagagc

G G S G G G S G G G G S S D I V M T Q S

ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag

P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q

gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctg

D V G T A V D W Y Q Q K P G K A P K L L

atttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc

I Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S

ggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcggattatttt

G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F

tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggcggcaccaaactggaaattaaa

C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K

gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcggcggcggc

E P K S S D K T H T C P P C P P C G G G

agcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccg

S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P

agccgcgatgaactgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttat

S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y

ccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaacc

P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T

accccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactgaccgtggat

T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D

ФИГ. 49

156

aaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcat

K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H

aaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 147)**

N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 114)**

ФИГ. 49
продолжение

IAB2M EH5 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 115)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt

E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I

agctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg

S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A

agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcggcaccacctat

S G K G L E W I G N I N P N N G G T T Y

aaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat

N Q K F E D R A T L T V D K S T S T A Y

atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg

M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W

aactttgattattggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc

N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G

ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcagcagcgatattgtgatgacccagagc

G G S G G G G S G G G G S S D I V M T Q S

ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag

P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q

gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctg

D V G T A V D W Y Q Q K P G K A P K L L

atttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc

I Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S

ggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcggattatttt

G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F

tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggcggcaccaaactggaaattaaa

C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K

gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcccgccgtgc

E P K S S D K T H T C P P C P P C P P C

ggcggcggcagcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtatacc

G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T

ctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaa

L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K

ggcttttatccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaac

G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N

tataaaaccacccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactg

Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L

ФИГ. 50

158

accgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaa

T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E

gcgctgcataaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 148)**

A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 115)**

ФИГ. 50
продолжение

159

IAB2M EH7 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 116)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtgctgctgctgtgggtccccggaagcaccgga

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaagtgcagctggtgcaatccggagccgaggtgaagaaacccggcgccagcgtgaagatt

E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I

agctgcaaaaccagcggctacaccttcaccgagtacaccatccactgggtcaagcaggcc

S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A

agcggcaagggcctggagtggatcggcaacattaaccccaataacggcggcaccacctac

S G K G L E W I G N I N P N N G G T T Y

aatcagaaattcgaggacagggccaccctgaccgtggataagtccacctccaccgcctac

N Q K F E D R A T L T V D K S T S T A Y

atggagctgtcctccctgagaagcgaggatacagccgtctactactgcgctgccggatgg

M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W

aatttcgactactggggccagggcacaaccgtgaccgtgagcagcggatccacctccggc

N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G

ggcggcagcggaggcggcagcggcggaggaggcagcagcgacatcgtgatgacacagtcc

G G S G G G S G G G G S S D I V M T Q S

cccagcagcctgtccgctagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgcaaggcctcccag

P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q

gacgtgggaaccgctgtggactggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctg

D V G T A V D W Y Q Q K P G K A P K L L

atctactgggccagcaccagacacaccggcgtgcctgacagattcaccggctccggaagc

I Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S

ggcaccgacttcaccctgaccatcagctccctccagcccgaggacttcgccgactacttc

G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F

tgccagcagtataatagctacccccctgaccttcggcggcggcacaaagctcgaaatcaag

C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K

gagctgaagacccctctgggagacaccacccacacctgccccccttgccctccctgtgga

E L K T P L G D T T H T C P P C P P C G

ggcggaagcagcggaggaggaagcggaggacagcccagggaaccccaggtgtacacactg

G G S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L

ccccccctccagagaggagatgacaaagaaccaggtgtccctcacctgcctggtgaaaggc

P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G

ttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagtccaacggccaacccgaaaacaactac

F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y

aagaccacccctcccgtgctggattccgacggctccttttttcctgtacagcaagctgacc

K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T

ФИГ. 51

160

gtggacaagtccaggtggcagcagggcaatgtctttagctgcagcgtcatgcacgaggcc

V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A

ctgcataaccactatacccagaagtccctgtccctcagccctggatga **(SEQ ID NO: 149)**

L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 116)**

ФИГ. 51
продолжение

161

IAB2M EH8 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 117)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaaatt

E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K I

agctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcattgggtgaaacaggcg

S C K T S G Y T F T E Y T I H W V K Q A

agcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaacggcggcaccacctat

S G K G L E W I G N I N P N N G G T T Y

aaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagcaccagcaccgcgtat

N Q K F E D R A T L T V D K S T S T A Y

atggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcggcgggctgg

M E L S S L R S E D T A V Y Y C A A G W

aactttgattattggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcggcagcaccagcggc

N F D Y W G Q G T T V T V S S G S T S G

ggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcagcagcgatattgtgatgacccagagc

G G S G G G G S G G G G S S D I V M T Q S

ccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgcaaagcgagccag

P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q

gatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctg

D V G T A V D W Y Q Q K P G K A P K L L

atttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggatcgctttaccggcagcggcagc

I Y W A S T R H T G V P D R F T G S G S

ggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcggattatttt

G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F

tgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggcggcaccaaactggaaattaaa

C Q Q Y N S Y P L T F G G G T K L E I K

gaactgaaaaccccgctgggcgataccacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcccg

E L K T P L G D T T H T C P P C P P C P

ccgtgcggcggcggcagcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtg

P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V

tataccctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctg

Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L

gtgaaaggcttttatccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaa

V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E

aacaactataaaaccaccccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagc

N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S

ФИГ. 52

aaactgaccgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatg

K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M

catgaagcgctgcataaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 150)**

H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 117)**

ФИГ. 52
продолжение

IAB2M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 118)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gatattgtgatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc

D I V M T Q S P S S L S A S V G D R V T

attacctgcaaagcgagccaggatgtgggcaccgcggtggattggtatcagcagaaaccg

I T C K A S Q D V G T A V D W Y Q Q K P

ggcaaagcgccgaaactgctgatttattgggcgagcacccgccataccggcgtgccggat

G K A P K L L I Y W A S T R H T G V P D

cgctttaccggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccg

R F T G S G S G T D F T L T I S S L Q P

gaagattttgcggattatttttgccagcagtataacagctatccgctgacctttggcggc

E D F A D Y F C Q Q Y N S Y P L T F G G

ggcaccaaactggaaattaaaggcagcaccagcggcggcggcagcggcggcggcagcggc

G T K L E I K G S T S G G G S G G G S G

ggcggcggcagcagcgaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggc

G G G S S E V Q L V Q S G A E V K K P G

gcgagcgtgaaaattagctgcaaaaccagcggctatacctttaccgaatataccattcat

A S V K I S C K T S G Y T F T E Y T I H

tgggtgaaacaggcgagcggcaaaggcctggaatggattggcaacattaacccgaacaac

W V K Q A S G K G L E W I G N I N P N N

ggcggcaccacctataaccagaaatttgaagatcgcgcgaccctgaccgtggataaaagc

G G T T Y N Q K F E D R A T L T V D K S

accagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattat

T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y

tgcgcggcgggctggaactttgattattggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagc

C A A G W N F D Y W G Q G T T V T V S S

gaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcggcggcggc

E P K S S D K T H T C P P C P P C G G G

agcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccg

S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P

agccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttat

S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y

ccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaacc

P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T

accccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactgaccgtggat

T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D

ФИГ. 53

164

aaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcat

K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H

aaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 151)**

N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 118)**

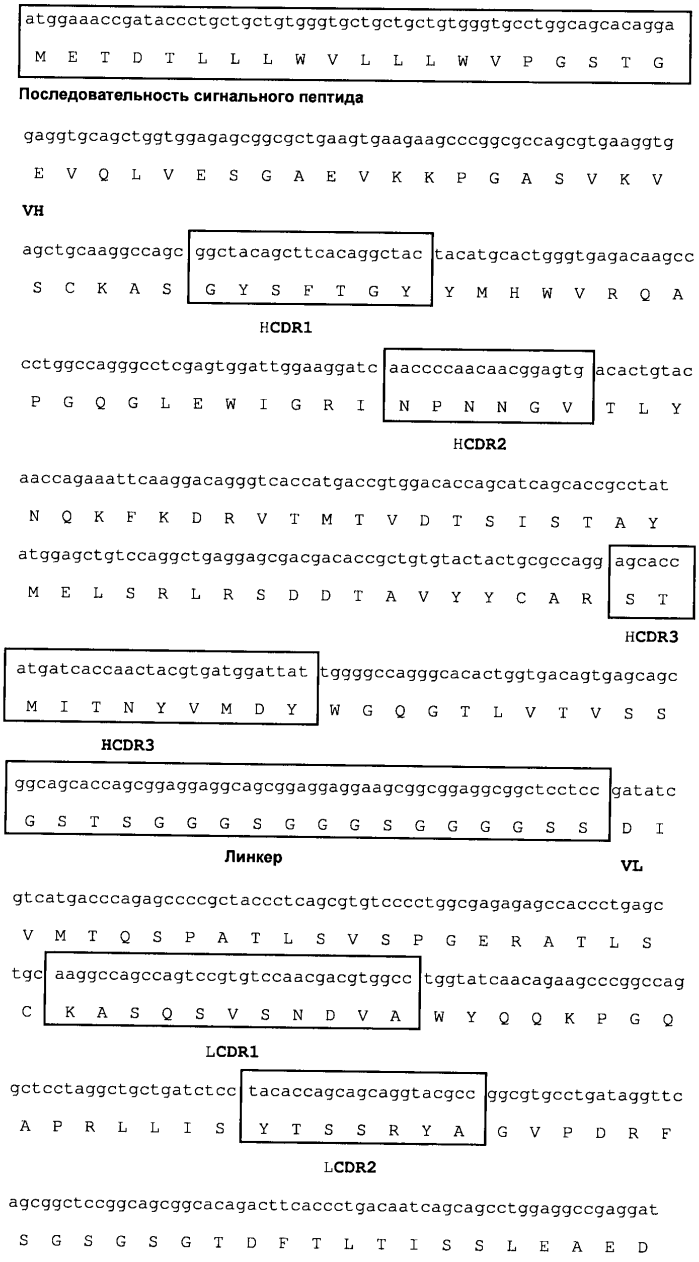
ФИГ. 53
продолжение

Выравнивание, сравнивающее IAB20M EH1 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 119) с IAB20M EH3 γ1 (M2) (VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 120), различия показаны в прямоугольниках.

```
IAB20M EH1 γ1 (M2) METDTLLLWVLLLWVPGSTG[Q]VQLV[Q]SGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQA 60
IAB20M EH3 γ1 (M2) METDTLLLWVLLLWVPGSTG[E]VQLV[E]SGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQA 60

IAB20M EH1 γ1 (M2) PGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARST 120
IAB20M EH3 γ1 (M2) PGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARST 120

IAB20M EH1 γ1 (M2) MITNYVMDYWGQGTLVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGGSSDIVMTQSPATLSVSPGERATLS 180
IAB20M EH3 γ1 (M2) MITNYVMDYWGQGTLVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGGSSDIVMTQSPATLSVSPGERATLS 180

IAB20M EH1 γ1 (M2) CKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL[Q]AED 240
IAB20M EH3 γ1 (M2) CKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL[E]AED 240

IAB20M EH1 γ1 (M2) [V]AVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIKEPKS[C]DKTHTCP[---]PCGGGSSGGGSGGQPREPQV 297
IAB20M EH3 γ1 (M2) [E]AVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIKEPKS[S]DKTHTCP[PCP]PCGGGSSGGGSGGQPREPQV 300

IAB20M EH1 γ1 (M2) YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS 357
IAB20M EH3 γ1 (M2) YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS 360

IAB20M EH1 γ1 (M2) KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG[K]396 (SEQ ID NO: 119)
IAB20M EH3 γ1 (M2) KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG[-]398 (SEQ ID NO: 120)
```

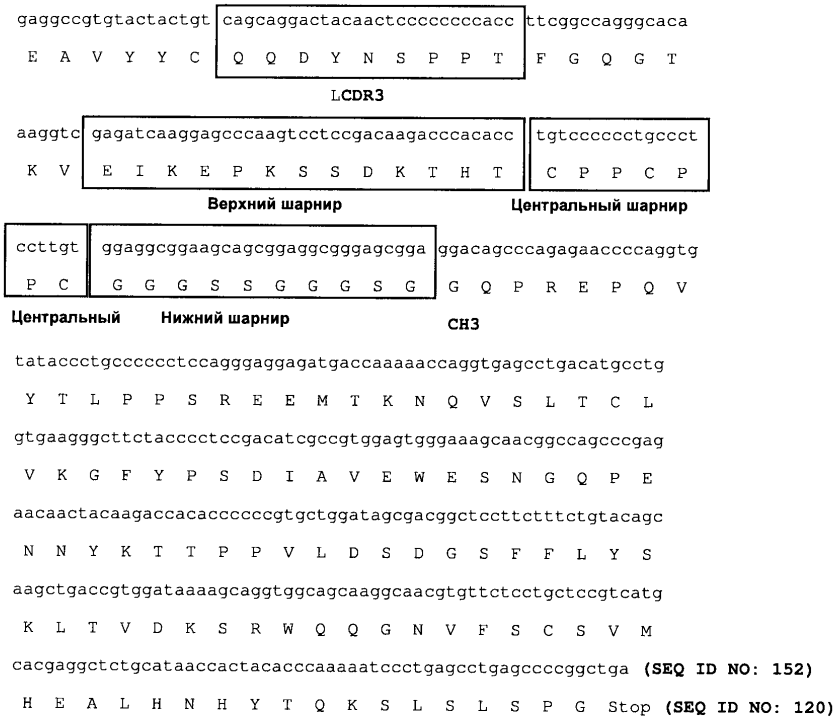
ФИГ. 54

IAB20M EH3 γ1 (M2) (VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E), участки CDR определены согласно определению Чотия (SEQ ID NO: 120)



ФИГ. 55

167



ФИГ. 55
продолжение

IAB20M EH3 γ1 (M2) (SEQ ID NO: 121)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

caggtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcgtgaaagtg

Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V

agctgcaaagcgagcggctatagctttaccggctattatatgcattgggtgcgccaggcg

S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A

ccgggccagggcctggaatggattggccgcattaacccgaacaacggcgtgaccctgtat

P G Q G L E W I G R I N P N N G V T L Y

aaccagaaatttaaagatcgcgtgaccatgaccgtggataccagcattagcaccgcgtat

N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y

atggaactgagccgcctgcgcagcgatgataccgcggtgtattattgcgcgcgcagcacc

M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T

atgattaccaactatgtgatggattattggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc

M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S

ggcagcaccagcggcggcggcagcggcggcggcagcggcggcggcggcagcagcgatatt

G S T S G G G S G G G S G G G G S S D I

gtgatgacccagagcccggcgaccctgagcgtgagcccgggcgaacgcgcgaccctgagc

V M T Q S P A T L S V S P G E R A T L S

tgcaaagcgagccagagcgtgagcaacgatgtggcgtggtatcagcagaaaccgggccag

C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q

gcgccgcgcctgctgattagctataccagcagccgctatgcgggcgtgccggatcgctttt

A P R L L I S Y T S S R Y A G V P D R F

agcggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcaggcggaagat

S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D

gtggcggtgtattattgccagcaggattataacagcccgccgacctttggccagggcacc

V A V Y Y C Q Q D Y N S P P T F G Q G T

aaagtggaaattaaagaaccgaaaagcagcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccg

K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P

ccgtgcggcggcggcagcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtg

P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V

tataccctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctg

Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L

gtgaaaggcttttatccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaa

V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E

aacaactataaaaccaccccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagc

N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S

ФИГ. 56

169

aaactgaccgtggataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatg

K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M

catgaagcgctgcataaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 153)**

H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 121)**

ФИГ. 56
продолжение

IAB20M EH3 γ1 (M2) (VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 122)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcctggcagcacagga

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaggtgcagctggtggagagcggcgctgaagtgaagaagcccggcgccagcgtgaaggtg

E V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V

agctgcaaggccagcggctacagcttcacaggctactacatgcactgggtgagacaagcc

S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A

cctggccagggcctcgagtggattggaaggatcaaccccaacaacggagtgacactgtac

P G Q G L E W I G R I N P N N G V T L Y

aaccagaaattcaaggacagggtcaccatgaccgtggacaccagcatcagcaccgcctat

N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y

atggagctgtccaggctgaggagcgacgacaccgctgtgtactactgcgccaggagcacc

M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T

atgatcaccaactacgtgatggattattggggccagggcacactggtgacagtgagcagc

M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S

ggcagcaccagcggaggaggcagcggaggaggaagcggcggaggcggctcctccgatatc

G S T S G G G S G G G S G G G G S S D I

gtcatgacccagagccccgatagcctggccgtgagcctgggcgagagagccaccatcaat

V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N

tgcaaggccagccagtccgtgtccaacgacgtggcctggtatcaacagaagcccggccag

C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q

gctcctaggctgctgatctcctacaccagcagcaggtacgccggcgtgcctgataggttc

A P R L L I S Y T S S R Y A G V P D R F

agcggctccggcagcggcacagacttcaccctgacaatcagcagcctgcaagccgaagat

S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D

gtggccgtgtactactgtcagcaggactacaactccccccccaccttcggccagggcaca

V A V Y Y C Q Q D Y N S P P T F G Q G T

aaggtcgagatcaaggagcccaagtcctccgacaagacccacacctgtccccctgccct

K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P

ccttgtggaggcggaagcagcggaggcgggagcggaggacagcccagagaaccccaggtg

P C G G G S S G G G S G G Q P R E P Q V

tataccctgccccctccagggaggagatgaccaaaaaccaggtgagcctgacatgcctg

Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L

gtgaagggcttctacccctccgacatcgccgtggagtgggaaagcaacggccagcccgag

V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E

aacaactacaagaccacacccccgctgctggatagcgacggctccttctttctgtacagc

N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S

ФИГ. 57

171

aagctgaccgtggataaaagcaggtggcagcaaggcaacgtgttctcctgctccgtcatg

K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M

cacgaggctctgcataaccactacacccaaaaatccctgagcctgagccccggctga **(SEQ ID NO: 154)**

H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 122)**

ФИГ. 57
продолжение

IAB20M EH5 γ1 (M2) (VL-Q79E, V83E; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 123)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtcctgctcctgtgggtgcccggatccacaggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaggtccagctggtggaatccggagccgaggtgaagaaacccggcgcctccgtgaaagtc

E V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V

tcctgcaaggcctccggctactccttcaccggctactacatgcactgggtgaggcaggcc

S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A

cctggacagggactggaatggatcggcaggattaaccccaacaacggagtgaccctgtac

P G Q G L E W I G R I N P N N G V T L Y

aaccagaagttcaaggacagggtcaccatgaccgtggacaccagcatttccaccgcctac

N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y

atggagctgtccaggctgagaagcgacgacaccgctgtgtactactgcgccaggagcacc

M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T

atgatcaccaactacgtgatggattattggggccagggcaccctcgtgacagtgagcagc

M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S

ggatccacaagcggaggcggaagcggaggcggcagcggcggcggcggcagcagcgatatc

G S T S G G G S G G G S G G G G S S D I

gtgatgacccagagccccgccaccctgagcgtgagccccggcgaaagggccacactgagc

V M T Q S P A T L S V S P G E R A T L S

tgcaaggccagccagtccgtctccaacgatgtggcctggtaccagcagaagcccggacag

C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q

gcccctaggctcctgatctcctacaccagctccaggtacgccggcgtccctgacagattc

A P R L L I S Y T S S R Y A G V P D R F

tccggcagcggcagcggcaccgatttcaccctcaccatcagcagcctggaagccgaagat

S G S G S G T D F T L T I S S L E A E D

gaagctgtgtattactgccagcaggactacaacagccccccacatttggccagggaacc

E A V Y Y C Q Q D Y N S P P T F G Q G T

aaggtggagatcaaggagcccaagagcagcgacaagacccatacctgccctccttgccct

K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P

ccttgtcctccctgtggaggcggaagctccggaggaggatccggaggccagcctagagag

P C P P C G G G S S G G G S G G Q P R E

ccccaggtgtacaccctgccccctagcagggaggagatgaccaagaaccaggtgagcctg

P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L

acatgtctggtcaagggcttttaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaacggc

T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G

cagcctgagaacaactacaagaccaccccctcctgtgctggactccgacggcagctttttc

Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F

ФИГ. 58

173

ctgtacagcaagctgaccgtggataagagcaggtggcagcagggcaacgtcttcagctgc

L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C

agcgtgatgcacgaggctctgcataaccactacacccagaagagcctgagcctgagccct

S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P

ggatga **(SEQ ID NO: 155)**

G Stop **(SEQ ID NO: 123)**

ФИГ. 58
продолжение

IAB20M EH5 γ1 (M2) (VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N; VH-Q1E, Q6E) (SEQ ID NO: 124)

atggagacagacaccctcctcctgtgggtcctgctcctgtgggtgcccggatccacaggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gaggtccagctggtggaatccggagccgaggtgaagaaacccggcgcctccgtgaaagtc

E V Q L V E S G A E V K K P G A S V K V

tcctgcaaggcctccggctactccttcaccggctactacatgcactgggtgaggcaggcc

S C K A S G Y S F T G Y Y M H W V R Q A

cctggacagggactggaatggatcggcaggattaaccccaacaacggagtgaccctgtac

P G Q G L E W I G R I N P N N G V T L Y

aaccagaagttcaaggacagggtcaccatgaccgtggacaccagcatttccaccgcctac

N Q K F K D R V T M T V D T S I S T A Y

atggagctgtccaggctgagaagcgacgacaccgctgtgtactactgcgccaggagcacc

M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R S T

atgatcaccaactacgtgatggattattggggccagggcaccctcgtgacagtgagcagc

M I T N Y V M D Y W G Q G T L V T V S S

ggatccacaagcggaggcggaagcggaggcggcagcggcggcggcggcagcagcgatatc

G S T S G G G S G G G S G G G G S S D I

gtgatgacccagagccccgattccctcgccgtgagcctgggcgaaagggccacaatcaac

V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N

tgcaaggccagccagtccgtctccaacgatgtggcctggtaccagcagaagcccggacag

C K A S Q S V S N D V A W Y Q Q K P G Q

gcccctaggctcctgatctcctacaccagctccaggtacgccggcgtccctgacagattc

A P R L L I S Y T S S R Y A G V P D R F

tccggcagcggcagcggcaccgatttcaccctcaccatcagcagcctgcaggccgaggac

S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D

gtggctgtgtattactgccagcaggactacaacagccccccacatttggccagggaacc

V A V Y Y C Q Q D Y N S P P T F G Q G T

aaggtggagatcaaggagcccaagagcagcgacaagacccatacctgccctccttgccct

K V E I K E P K S S D K T H T C P P C P

ccttgtcctccctgtggaggcggaagctccggaggaggatccggaggccagcctagagag

P C P P C G G G S S G G G S G G Q P R E

ccccaggtgtacaccctgcccctagcagggaggagatgaccaagaaccaggtgagcctg

P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L

acatgtctggtcaagggcttttaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaacggc

T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G

cagcctgagaacaactacaagaccacccctcctgtgctggactccgacggcagctttttc

Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F

ФИГ. 59

175

ctgtacagcaagctgaccgtggataagagcaggtggcagcagggcaacgtcttcagctgc

L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C

agcgtgatgcacgaggctctgcataaccactacacccagaagagcctgagcctgagccct

S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P

ggatga **(SEQ ID NO: 156)**

G Stop **(SEQ ID NO: 124)**

ФИГ. 59
продолжение

Выравнивание, сравнивающее IAB1M EH1 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 125) с IAB1M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 126), различия показаны в прямоугольниках

IAB1M EH1 γ1 (M1) METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPG 60

IAB1M EH3 γ1 (M1) METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSVRFIHWYQQKPG 60

IAB1M EH1 γ1 (M1) KAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWGSSPFTFGQG 120

IAB1M EH3 γ1 (M1) KAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWGSSPFTFGQG 120

IAB1M EH1 γ1 (M1) TKVEIKGSTSGGGSGGGSGGGSSEVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYYIHW 180

IAB1M EH3 γ1 (M1) TKVEIKGSTSGGGSGGGSGGGSSEVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYYIHW 180

IAB1M EH1 γ1 (M1) VRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTEFVPKFQGRATMSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC 240

IAB1M EH3 γ1 (M1) VRQAPGKGLEWVAWIDPENGDTEFVPKFQGRATMSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC 240

IAB1M EH1 γ1 (M1) KTGGFWGQGTLVTVSSEPKS[C]DKTHTCP[---]PCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSR[DE]297

IAB1M EH3 γ1 (M1) KTGGFWGQGTLVTVSSEPKS[S]DKTHTCP[PCP]PCGGGSSGGGSGGQPREPQVYTLPPSR[EE]300

IAB1M EH1 γ1 (M1) [L]TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW 357

IAB1M EH3 γ1 (M1) [M]TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW 360

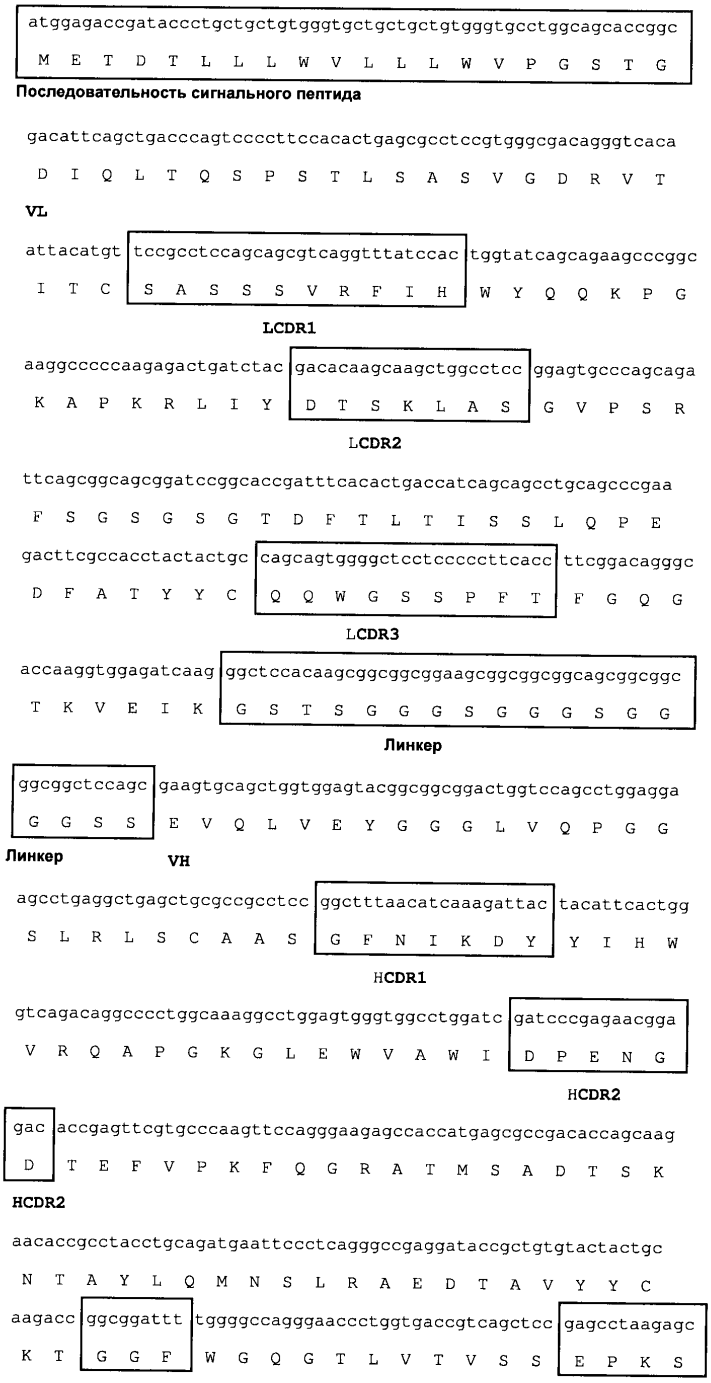
IAB1M EH1 γ1 (M1) QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG[K]387 **(SEQ ID NO: 125)**

IAB1M EH3 γ1 (M1) QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG[-]389 **(SEQ ID NO: 126)**

ФИГ. 60

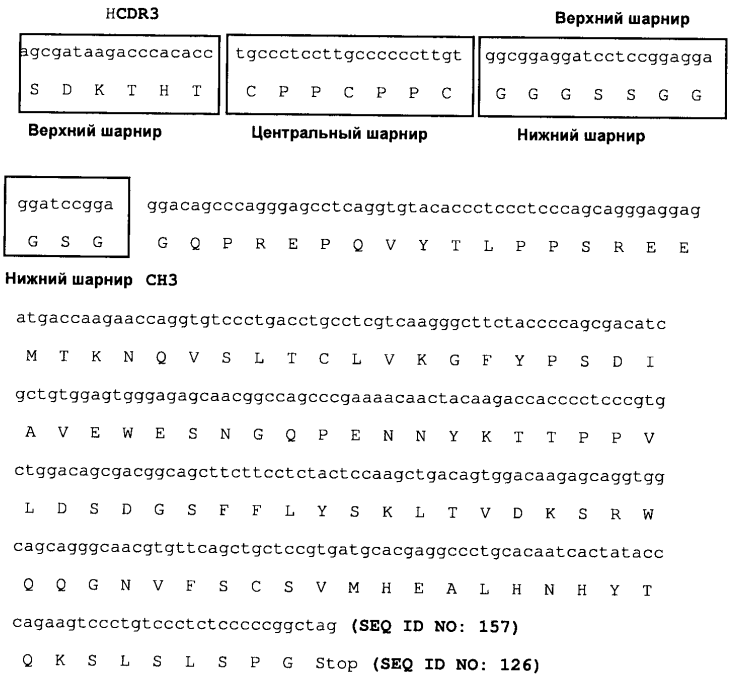
177

IAB1M EH3 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 126), участки CDR определены согласно определению Чотия



ФИГ. 61

178



ФИГ. 61
продолжение

179

IAB1M EH2 γ2 (M1) (SEQ ID NO: 127)

atggagaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcctggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gacattcagctgacccagtccccttccacactgagcgcctccgtgggcgacagggtcaca

D I Q L T Q S P S T L S A S V G D R V T

attacatgttccgcctccagcagcgtcaggtttatccactggtatcagcagaagcccggc

I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G

aaggcccccaagagactgatctacgacacaagcaagctggcctccggagtgcccagcaga

K A P K R L I Y D T S K L A S G V P S R

ttcagcggcagcggatccggcaccgatttcacactgaccatcagcagcctgcagcccgaa

F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E

gacttcgccacctactactgccagcagtggggctcctccccttcaccttcggacagggc

D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G

accaaggtggagatcaagggctccacaagcggcggcggaagcggcggcggcagcggcggc

T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G

ggcggctccagcgaagtgcagctggtggagtacggcggcggactggtccagcctggagga

G G S S E V Q L V E Y G G G L V Q P G G

agcctgaggctgagctgcgccgcctccggctttaacatcaaagattactacattcactgg

S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W

gtcagacaggcccctggcaaaggcctggagtgggtggcctggatcgatcccgagaacgga

V R Q A P G K G L E W V A W I D P E N G

gacaccgagttcgtgcccaagttccagggaagagccaccatgagcgccgacaccagcaag

D T E F V P K F Q G R A T M S A D T S K

aacaccgcctacctgcagatgaattccctcagggccgaggataccgctgtgtactactgc

N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C

aagaccggcggattttggggccagggaaccctggtgaccgtcagctccgagagaaagagc

K T G G F W G Q G T L V T V S S E R K S

tgcgtggagtgtcctccttgtcccggcggaggatcctccggaggaggatccggaggacag

C V E C P P C P G G G S S G G G S G G Q

cccagggagcctcaggtgtacaccctccctcccagcagggaggagatgaccaagaaccag

P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q

gtgtccctgacctgcctcgtcaagggcttctaccccagcgacatcgctgtggagtgggag

V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E

agcaacggccagcccgaaaacaactacaagaccaccctcccatgctggacagcgacggc

S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G

agcttcttcctctactccaagctgacagtggacaagagcaggtggcagcagggcaacgtg

ФИГ. 62

180

S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V

ttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactatacccagaagtccctgtcc

F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S

ctctcccccggctag **(SEQ ID NO: 158)**

L S P G Stop **(SEQ ID NO: 127)**

ФИГ. 62
продолжение

181

IAB1M EH5 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 128)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gatattcagctgacccagagcccgagcaccctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc

D I Q L T Q S P S T L S A S V G D R V T

attacctgcagcgcgagcagcagcgtgcgctttattcattggtatcagcagaaaccgggc

I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G

aaagcgccgaaacgcctgatttatgataccagcaaactggcgagcggcgtgccgagccgc

K A P K R L I Y D T S K L A S G V P S R

tttagcggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaa

F S G S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E

gattttgcgacctattattgccagcagtggggcagcagcccgtttacctttggccagggc

D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G

accaaagtggaaattaaaggcagcaccagcggcggcggcagcggcggcggcagcggcggc

T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G

ggcggcagcagcgaagtgcagctggtggaatatggcggcggcctggtgcagccgggcggc

G G S S E V Q L V E Y G G G L V Q P G G

agcctgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttaacattaaagattattatattcattgg

S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W

gtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgtggattgatccggaaaacggc

V R Q A P G K G L E W V A W I D P E N G

gataccgaatttgtgccgaaatttcagggccgcgcgaccatgagcgcggataccagcaaa

D T E F V P K F Q G R A T M S A D T S K

aacaccgcgtatctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagataccgcggtgtattattgc

N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C

aaaaccggcggcttttggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgaaccgaaaagc

K T G G F W G Q G T L V T V S S E P K S

agcgataaaacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcccgccgtgcggcggcggcagc

S D K T H T C P P C P P C P P C G G G S

agcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccgagc

S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P S

cgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttatccg

R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P

agcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaaccacc

S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T

ccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactgaccgtggataaa

P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K

ФИГ. 63

182

agccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcataac

S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N

cattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 159)**

H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 128)**

ФИГ. 63
продолжение

IAB1M EH7 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 129)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gatattcagctgacccagagcccgagcaccctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc

D I Q L T Q S P S T L S A S V G D R V T

attacctgcagcgcgagcagcagcgtgcgctttattcattggtatcagcagaaaccgggc

I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G

aaagcgccgaaacgcctgatttatgataccagcaaactggcgagcggcgtgccgagccgc

K A P K R L I Y D T S K L A S G V P S R

tttagcggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaa

F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E

gattttgcgacctattattgccagcagtggggcagcagcccgtttacctttggccagggc

D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G

accaaagtggaaattaaaggcagcaccagcggcggcggcagcggcggcggcagcggcggc

T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G

ggcggcagcagcgaagtgcagctggtggaatatggcggcggcctggtgcagccgggcggc

G G S S E V Q L V E Y G G G L V Q P G G

agcctgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttaacattaaagattattatattcattgg

S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W

gtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgtggattgatccggaaaacggc

V R Q A P G K G L E W V A W I D P E N G

gataccgaatttgtgccgaaatttcagggccgcgcgaccatgagcgcggataccagcaaa

D T E F V P K F Q G R A T M S A D T S K

aacaccgcgtatctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagataccgcggtgtattattgc

N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C

aaaaccggcggcttttggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgaactgaaaacc

K T G G F W G Q G T L V T V S S E L K T

ccgctgggcgataccacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcggcggcggcagcagc

P L G D T T H T C P P C P P C G G G S S

ggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccgccgagccgc

G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P P S R

gaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttatccgagc

E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S

gatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaaaccaccccg

D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P

ccggtgctggatagcgatggcagctttttttctgtatagcaaactgaccgtggataaaagc

P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S

ФИГ. 64

184

cgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctgcataaccat

R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H

tatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 160)**

Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 129)**

ФИГ. 64
продолжение

IAB1M EH8 γ1 (M1) (SEQ ID NO: 130)

atggaaaccgataccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccgggcagcaccggc

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G

gatattcagctgacccagagcccgagcaccctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgacc

D I Q L T Q S P S T L S A S V G D R V T

attacctgcagcgcgagcagcagcgtgcgctttattcattggtatcagcagaaaccgggc

I T C S A S S S V R F I H W Y Q Q K P G

aaagcgccgaaacgcctgatttatgataccagcaaactggcgagcggcgtgccgagccgc

K A P K R L I Y D T S K L A S G V P S R

tttagcggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaa

F S G S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E

gattttgcgacctattattgccagcagtggggcagcagcccgtttacctttggccagggc

D F A T Y Y C Q Q W G S S P F T F G Q G

accaaagtggaaattaaaggcagcaccagcggcggcggcagcggcggcggcagcggcggc

T K V E I K G S T S G G G S G G G S G G

ggcggcagcagcgaagtgcagctggtggaatatggcggcggcctggtgcagccgggcggc

G G S S E V Q L V E Y G G G L V Q P G G

agcctgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttaacattaaagattattatattcattgg

S L R L S C A A S G F N I K D Y Y I H W

gtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgtggattgatccggaaaacggc

V R Q A P G K G L E W V A W I D P E N G

gataccgaatttgtgccgaaatttcagggccgcgcgaccatgagcgcggataccagcaaa

D T E F V P K F Q G R A T M S A D T S K

aacaccgcgtatctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagataccgcggtgtattattgc

N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C

aaaaccggcggcttttggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgaactgaaaacc

K T G G F W G Q G T L V T V S S E L K T

ccgctgggcgataccacccatacctgcccgccgtgcccgccgtgcccgccgtgcggcggc

P L G D T T H T C P P C P P C P P C G G

ggcagcagcggcggcggcagcggcggccagccgcgcgaaccgcaggtgtataccctgccg

G S S G G G S G G Q P R E P Q V Y T L P

ccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttt

P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F

tatccgagcgatattgcggtggaatgggaaagcaacggccagccggaaaacaactataaa

Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K

accaccccgccggtgctggatagcgatggcagctttttctgtatagcaaactgaccgtg

T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V

ФИГ. 65А

186

gataaaagccgctggcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgcatgaagcgctg

D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L

cataaccattatacccagaaaagcctgagcctgagcccgggctga **(SEQ ID NO: 161)**

H N H Y T Q K S L S L S P G Stop **(SEQ ID NO: 130)**

ФИГ. 65A
продолжение

IAB25M NH γ2 (M1)

```
ATGGAAACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTCTGGGTCCCAGGCTCCACCGGT
 M  E  T  D  T  L  L  L  W  V  L  L  L  W  V  P  G  S  T  G
```

Сигнальный пептид

```
GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
 E  I  V  L  T  Q  S  P  A  T  L  S  L  S  P  G  E  R  A  T
```

VL

```
CTCTCCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGAACTGGTACCAACAGAAACCTGGC
 L  S  C  S  A  S  S  S  V  S  Y  M  N  W  Y  Q  Q  K  P  G
```

LCDR1

```
CAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCAC
 Q  A  P  R  L  L  I  Y  D  T  S  K  L  A  S  G  V  P  A  H
```

LCDR2

```
TTCAGGGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAA
 F  R  G  S  G  S  G  T  D  F  T  L  T  I  S  S  L  E  P  E

GATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTGGAGTAGTAACCCATTCACGTTCGGCCAAGGG
 D  F  A  V  Y  Y  C  Q  Q  W  S  S  N  P  F  T  F  G  Q  G
```

LCDR3

```
ACCAAGGTGGAAATCAAAGGCTCCACATCCGGCGGAGGCTCTGGCGGTGGATCTGGCGGA
 T  K  V  E  I  K  G  S  T  S  G  G  G  S  G  G  G  S  G  G
```

Линкер

```
GGCGGCTCATCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCC
 G  G  S  S  Q  V  Q  L  V  Q  S  G  A  E  V  K  K  P  G  A
```

Линкер

```
TCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGGTACACGATGCACTGG
 S  V  K  V  S  C  K  A  S  G  Y  T  F  T  R  Y  T  M  H  W
```

HCDR1

```
GTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATACATTAATCCTAGCCGTGGT
 V  R  Q  A  P  G  Q  G  L  E  W  M  G  Y  I  N  P  S  R  G
```

HCDR2

```
TATACTAATTACAATCAGAAGTTCAAGGACAGGGTCACCATGACCACAGACACGTCCATC
 Y  T  N  Y  N  Q  K  F  K  D  R  V  T  M  T  T  D  T  S  I
```

HCDR2

```
AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
 S  T  A  Y  M  E  L  S  R  L  R  S  D  D  T  A  V  Y  Y  C

GCGAGATATTATGATGATCATTACTCACTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACC
 A  R  Y  Y  D  D  H  Y  S  L  D  Y  W  G  Q  G  T  L  V  T
```

HCDR3

```
GTCTCCTCAGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCA
 V  S  S  E  R  K  C  C  V  E  C  P  P  C  P  A  P  P  V  A
```

Верхний шарнир Центральный шарнир Нижний шарнир (НШ)

```
GGACCGGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG
 G  P  G  Q  P  R  E  P  Q  V  Y  T  L  P  P  S  R  E  E  M
```

(НШ) CH3

```
ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCC
 T  K  N  Q  V  S  L  T  C  L  V  K  G  F  Y  P  S  D  I  A

GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCATGCTG
```

ФИГ. 65B

188

V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L

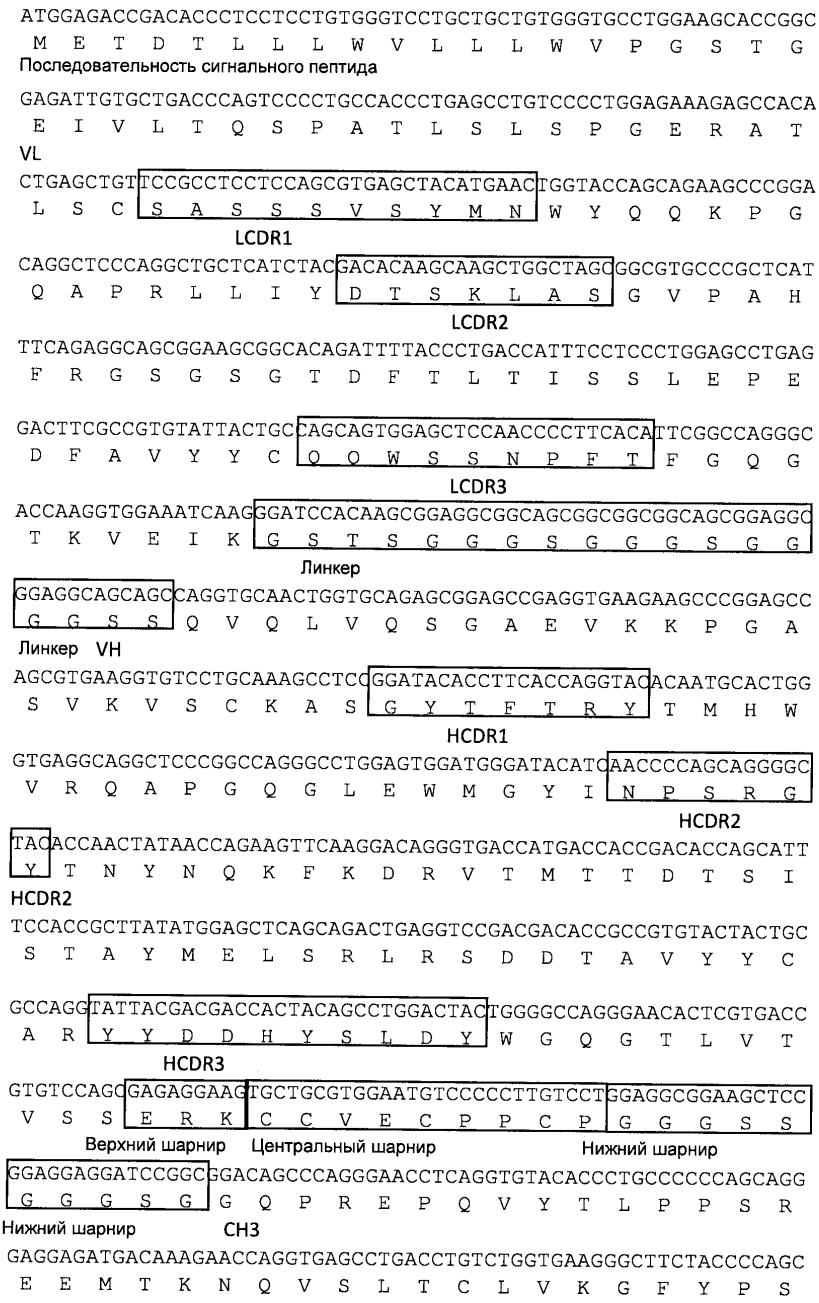
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q

CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG
Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q

AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA **(SEQ ID NO: 231)**
K S L S L S P G K **(SEQ ID NO: 232)**

ФИГ. 65B
продолжение

IAB25M EH γ2 (M1)



ФИГ. 65C

190

GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCC
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P

CCTATGCTGGATAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCAAGCTCACCGTGGATAAGAGC
P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S

AGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC
R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H

TACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCCGGCAAG **(SEQ ID NO: 233)**
Y T Q K S L S L S P G K **(SEQ ID NO: 234)**

ФИГ. 65C
продолжение

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH-K67R) IAB22M

VH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHFVRQAPGKGLEWIGRIDP
ANDNTLYASKFQGRATISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCGRGYGYYVFD
HWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 99)**

ФИГ. 66

192

Вариабельная область легкой цепи (VL-Q79E, V83E) IAB20M

VL

DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRY
AGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLEAEDEAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK

(SEQ ID NO: 100)

Вариабельная область легкой цепи (VL-A9D, T10S, S12A, P15L, L21I, S22N) IAB20M

VL

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRY
AGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK

(SEQ ID NO: 101)

ФИГ. 67

193

Вариабельная область тяжелой цепи (VH-Q1E, Q6E) IAB20M

VH

EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINP
NNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYV
MDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 102)**

ФИГ. 68

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL, R62S) антитела против CD3
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGVP
AHFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK **(SEQ ID NO: 103)**

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH, Q1E, Q6E) антитела против CD3
EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSRGYT
NYNQKFKDRVTMTTDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTLVT
VSS **(SEQ ID NO: 104)**

ФИГ. 69

ПСМА (простатический специфический мембранный антиген), глутаматкарбоксипептидаза 2, Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: Q04609 (SEQ ID NO: 131)

MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWFIKSSNEATNITPKHNMKAFLDELKAENI

KKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDGNEIFN

TSLFEPPPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFR

GNKVKNAQLAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPLTPGYPANEYAYR

RGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTN

EVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFAS

WDAEEFGLLGSTEWAEENSRLLQERGVAYINADSSIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEG

KSLYESWTKKSPSPEFSGMPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYE

LVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKTYSVSFD

SLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHNKY

AGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA **(SEQ ID NO: 131)**

ФИГ. 70

196

АСКП (антиген стволовых клеток предстательной железы), Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: O43653 (SEQ ID NO: 132)

MKAVLLALLMAGLALQPGTALLCYSCKAQVSNEDCLQVENCTQLGEQCWTARIRAVGLLTVISKGCSLNC

VDDSQDYYVGKKNITCCDTDLCNASGAHALQPAAAILALLPALGLLLWGPGQL **(SEQ ID NO: 132)**

ФИГ. 71

Онкофетальный трофобластный гликопротеин 5T4 (gi|435655|e5T4), Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: Q13641 (SEQ ID NO: 133)

MPGGCSRGPAAGDGRLRLARLALVLLGWVSSSSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQCPALCECSE

AARTVKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEVRAGAFEH

LPSLRQLDLSHNPLADLSPFAFSGSNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSFEGMVVAALLAGRALQ

GLRRLELASNHFLYLPRDVLAQLPSLRHLDLSNNSLVSLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNGTLAE

LQGLPHIRVFLDNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVVQGKDRLTCAYPEKMRNRVLLELNSADLDCDPILPP

SLQTSYVFLGIVLALIGAIFLLVLYLNRKGIKKWMHNIRDACRDHMEGYHYRYEINADPRLTNLSSNSDV

(SEQ ID NO: 133)

ФИГ. 72

198

Цепь альфа гликопротеина поверхности Т-клеток CD8, Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: P01732 (SEQ ID NO: 134)

MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSPLDRTWNLGETVELKCQVLLSNPTSGCSWLFQPRGAAASPTFL

LYLSQNKPKAAEGLDTQRFSGKRLGDTFVLTLSDFRRENEGYYFCSALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTT

PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN

RRRVCKCPRPVVKSGDKPSLSARYV **(SEQ ID NO: 134)**

ФИГ. 73

Цепь бета гликопротеина поверхности Т-клеток CD8, Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: P10966 (SEQ ID NO: 135)

MRPRLWLLLAAQLTVLHGNSVLQQTPAYIKVQTNKMVMLSCEAKISLSNMRIYWLRQRQAPSSDSHHEFLALWDSAK

GTIHGEEVEQEKIAVFRDASRFILNLTSVKPEDSGIYFCMIVGSPELTFGKGTQLSVVDFLPTTAQPTKKSTLKKRV

CRLPRPETQKGPLCSPVTLGLLVAGVLVLLVSLGVAMHLCCRRRARLRFMKQFYK **(SEQ ID NO: 135)**

ФИГ. 74

200

Цепь дельта гликопротеина поверхности Т-клеток CD3, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: P04234 (SEQ ID NO: 136)

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGI

YRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQ

ALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK **(SEQ ID NO: 136)**

ФИГ. 75

201

Цепь гамма гликопротеина поверхности Т-клеток CD3, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: P09693 (SEQ ID NO: 137)

MEQGKGLAVLILAIILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKK

KWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQD

GVRQSRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLRRN **(SEQ ID NO: 137)**

ФИГ. 76

Цепь эпсилон гликопротеина поверхности Т-клеток CD3, Homo sapiens

UniProtKB/SwissProt: P07766 (SEQ ID NO: 138)

MQSGTHWRVL GLCLLSVGVW GQDGNEEMGG ITQTPYKVSI SGTTVILTCP

QYPGSEILWQ HNDKNIGGDE DDKNIGSDED HLSLKEFSEL EQSGYYVCYP

RGSKPEDANF YLYLRARVCE NCMEMDVMSV ATIVIVDICI TGGLLLLVYY

WSKNRKAKAK PVTRGAGAGG RQRGQNKERP PPVPNPDYEP IRKGQRDLYS

GLNQRRI **(SEQ ID NO: 138)**

ФИГ. 77

Цепь дзета гликопротеина поверхности Т-клеток CD3, Homo sapiens
UniProtKB/SwissProt: P20963 (SEQ ID NO: 139)

MKWKALFTAA ILQAQLPITE AQSFGLLDPK LCYLLDGILF IYGVILTALF
LRVKFSRSAD APAYQQGQNQ LYNELNLGRR EEYDVLDKRR GRDPEMGGKP
QRRKNPQEGL YNELQKDKMA EAYSEIGMKG ERRRGKGHDG LYQGLSTATK
DTYDALHMQA LPPR **(SEQ ID NO: 139)**

ФИГ. 78

IAB25M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) IAB25
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGTDFTLTISSLEPE
DFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 19)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) IAB25
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPSRGYTNYNQKFKDRVTMTTDTSIS
TAYMELSRLRSDDTAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 20)

ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

CH3 T26S, L28A, M57V IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 181)

CH3 T26W IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 182)

ФИГ. 79

IAB20M EH2 γ2 (от N- к C-концу)

Последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) антитела против 5T4
DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLISYTSSRYAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA
EDVAVYYCQQDYNSPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)

Линкер
GSTSGGGSGGGSGGGGSS (SEQ ID NO: 62)

,Последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела против 5T4
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPNNGVTLYNQKFKDRVTMTVDTSIST
AYMELSRLRSDDTAVYYCARSTMITNYVMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 18)

ERKSCVECPPCPGGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 34)

Верхний шарнир
ERK (SEQ ID NO: 47)

Центральный шарнир
SCVECPPCP (SEQ ID NO: 56)

Нижний шарнир
GGGSSGGGSG (SEQ ID NO: 59)

CH3 IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)

CH3 T26S, L28A, M57V IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 181)

CH3 T26W IgG2 человека
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 182)

ФИГ. 80