

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201891755 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.02.28

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.02.02

(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ КОНСТРУКЦИИ АНТИТЕЛ К ВСМА И CD3,
ВОВЛЕКАЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ

(31) 62/290,831

(32) 2016.02.03

(33) US

(86) PCT/EP2017/052202

(87) WO 2017/134134 2017.08.10

(71) Заявитель:

ЭМДЖЕН РИСЕРЧ (МЮНИК) ГМБХ
(DE); ЭМДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Раум Тобиас, Мюнц Маркус, Брози
Йоханнес, Куфер Петер, Хоффманн
Патрик, Фридрих Маттиас, Раттель
Бенно, Богнер Памела, Вольф
Андреас, Помпе Корнелиус (DE)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном изобретении предложены биспецифические конструкции антител со специфической модальностью Fc, характеризующиеся содержанием первого домена, связывающегося с ВСМА, второго домена, связывающегося с внеклеточным эпиглопом цепи CD3ε человека и/или Масаса (макака), и третьего домена, который является специфической модальностью Fc. Кроме того, в изобретении предложен полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, вектор, содержащий этот полинуклеотид, клетки-хозяева, экспрессирующие указанную конструкцию, и содержащая вышеуказанное фармацевтическая композиция.

A1

201891755

201891755

A1

**БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ КОНСТРУКЦИИ АНТИТЕЛ К ВСМА И CD3,
ВОВЛЕКАЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ**

Уровень техники

[1] Полученные из биспецифических антител молекулы, такие как конструкции антител ViTE[®] (биспецифические антитела, вовлекающие Т-клетки), представляют собой рекомбинантные белковые конструкции, состоящие из двух гибко связанных полученных из антител связывающих доменов. Один связывающий домен конструкций антител ViTE[®] является специфическим в отношении выбранного опухолеассоциированного поверхностного антигена на клетках-мишенях; второй связывающий домен является специфическим в отношении CD3 - субъединицы комплекса Т-клеточного рецептора на Т-клетках. По своей конкретной структуре конструкции антител ViTE[®] исключительно подходят для временного соединения Т-клеток с клетками-мишенями и, в то же время, для того, чтобы эффективно активировать характерный для Т-клеток цитолитический потенциал против клеток-мишеней. Важной дополнительной разработкой первого поколения конструкций антител ViTE[®] (смотрите WO 99/54440 и WO 2005/040220), вошедших в клиническую практику в виде AMG 103 и AMG 110, было предоставление биспецифических конструкций антител, связывающихся с независимым от окружения эпитопом в N-конце цепи CD3ε (WO 2008/119567). Конструкции антител ViTE[®], связывающиеся с этим выбранным эпитопом, не только демонстрируют межвидовую специфичность в отношении цепи CD3ε человека и *Callithrix jacchus*, *Saguinus oedipus* или *Saimiri sciureus*, но также, благодаря распознаванию этого конкретного эпитопа (вместо ранее описанных эпитопов связывающих CD3 компонентов в биспецифических, вовлекающих Т-клетки, молекулах), не активируют Т-клетки неспецифическим образом в той же степени, которая наблюдается для предыдущих поколений вовлекающих Т-клетки антител. Это снижение активации Т-клеток было связано и коррелирует с меньшим или сниженным перераспределением Т-клеток

у пациентов, причем последнее было связано с риском возникновения побочных явлений.

[2] Описанные в WO 2008/119567 конструкции антител, вероятно, подвержены быстрому выведению из организма; следовательно, хотя они способны быстро достигать большинства частей тела, быстро производятся и легки в обращении, их *in vivo* применения могут быть ограничены их кратковременным присутствием *in vivo*. Вследствие короткого *in vivo* времени полужизни этой небольшой одноцепочечной молекулы для достижения терапевтического действия использовали длительное введение путем продолжительной внутривенной инфузии. Однако такие продолжительные внутривенные инфузии считаются неудобными для пациентов и, следовательно, в случае более удобных альтернативных лечебных подходов, препятствуют выбору соединения, которое продемонстрировало большую эффективность в лечении соответствующего заболевания. Следовательно, в данной области техники существует потребность в биспецифических терапевтических средствах, которые сохраняют аналогичную терапевтическую эффективность, которые имеют формат, обеспечивающий простое производство, и которые имеют благоприятные фармакокинетические свойства, включая большее время полужизни.

[3] Повышенное время полужизни в целом полезно в *in vivo* применениях иммуноглобулинов, в особенности антител, и конкретно – фрагментов антител небольшого размера. Описанные в данной области техники подходы для достижения такого эффекта включают слияние небольшой биспецифической конструкции антитела с более крупными белками, которые предпочтительно не препятствуют терапевтическому действию ViTE®. Примеры таких дополнительных разработок биспецифических, вовлекающих Т-клетки, молекул включают биспецифические Fc-молекулы, например, описанные в US 2014/0302037, US 2014/0308285, WO 2014/144722, WO 2014/151910 и WO 2015/048272. Альтернативной стратегией является применение ЧСА, слитого с биспецифической молекулой или простое слияние связывающих пептидов человеческого альбумина (смотрите,

например, WO2013/128027, WO2014/140358).

[4] BCMA (антиген созревания В-клеток, TNFRSF17, CD269) представляет собой трансмембранный белок, принадлежащий к суперсемейству рецепторов TNF. Установлено, что он является В-клеточным маркером, существенным для В-клеточного развития и гомеостаза (Schliemann et al., (2001) Science 293 (5537):2111-2114), благодаря своему предположительно существенному взаимодействию с его лигандами BAFF (фактор, активирующий В-клетки, также обозначаемый TALL-1 или TNFSF13B) и APRIL (индуцирующий пролиферацию лиганд).

[5] Экспрессия BCMA ограничена В-клеточной линией дифференцировки и происходит, главным образом, на плазматических клетках и плазмабластах и, в некоторой степени, на В-клетках памяти, но практически отсутствует на периферических и наивных В-клетках. BCMA также экспрессируется на клетках множественной миеломы (ММ) и связан с лейкозом и лимфомами. Вместе с представителями своего семейства TACI (трансмембранный активатор и партнер лиганда циклофилина) и BAFF-R (рецептор фактора активации В-клеток, также известный как представитель суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 13C) BCMA регулирует разные аспекты гуморального иммунитета, развитие и гомеостаз В-клеток. Экспрессия BCMA проявляется скорее на поздних стадиях дифференцировки В-клеток и способствует долгосрочной выживаемости плазмбластов и плазматических клеток в костном мозге. Направленное удаление гена BCMA у мышей приводит к существенному снижению числа долгоживущих плазматических клеток в костном мозге, что указывает на значимость BCMA для их выживаемости.

[6] Наряду с этим открытием BCMA также поддерживает рост и выживаемость клеток множественной миеломы (ММ). Novak et al. Обнаружили, что линии клеток ММ и свежевыделенные клетки ММ экспрессируют BCMA и белок TACI на клеточной поверхности и имеют переменную экспрессию белка BAFF-R на клеточной поверхности (Novak et al., (2004) Blood 103(2):689-694).

[7] Множественная миелома (ММ) является вторым по счету наиболее распространенным гематологическим злокачественным

образованием и составляет 2% от всех смертей вследствие рака. ММ является гетерогенным заболеванием, а его причиной являются, главным образом, хромосомные транслокации, помимо прочего $t(11; 14)$, $t(4; 14)$, $t(8; 14)$, $del(13)$ и $del(17)$. Пораженные ММ пациенты могут испытывать множество связанных с заболеванием симптомов вследствие инфильтрации костного мозга, разрушения костей, почечной недостаточности, иммунодефицита и психологической нагрузки, связанной с диагнозом рака.

[8] Миелома является неизлечимым заболеванием, которое, как правило, отличается рецидивирующим течением, причем многим пациентам (пцт) необходимо несколько линий терапии. Результат лечения при РРММ остается неблагоприятным, в частности, после неудачного применения варианта лечения на основании ингибитора протеасом (PI)– и/или иммуномодулирующего препарата (IMiD).

[9] ММ все еще является трудным для лечения заболеванием и остается неизлечимой. Как правило, она отличается рецидивирующим течением, причем многим пациентам необходимо несколько линий терапии. Становятся доступными такие варианты терапии, как химиотерапия и подходы на основании трансплантации стволовых клеток, которые имеют улучшенный уровень выживаемости, но часто несут нежелательные побочные явления. На данный момент двумя наиболее часто применяемыми вариантами лечения для пациентов с множественной миеломой являются комбинации стероидов, талидомида, леналидомида, бортезомиба или различных цитотоксических агентов и, для более молодых пациентов, высокодозные химиотерапевтические подходы с трансплантацией аутологичных стволовых клеток.

[10] Большинство трансплантатов имеют аутологичный тип, т. е. используют собственные клетки пациентов. Было показано, что такие трансплантаты, хотя не обеспечивают полное излечение, продлевают жизнь отдельных пациентов. Их можно применять в качестве начального варианта терапии для впервые диагностированных пациентов или во время рецидива. Иногда, в случае отдельных пациентов, может рекомендоваться применение более одного трансплантата для нормального регулирования заболевания. Трансплантация стволовых клеток может не быть

вариантом для многих пациентов из-за пожилого возраста, наличия серьезной болезни или других физических ограничений. Химиотерапия только частично регулирует множественную миелому и редко приводит к полной ремиссии. Результат лечения при рецидивной рефрактерной ММ остается неблагоприятным, в частности, после неудачного применения варианта лечения на основании ингибитора протеасом (PI)- и/или иммуномодулирующего препарата (IMiD). Таким образом, существует острая необходимость в новых, инновационных вариантах лечения.

[11] Bellucci et al. (Blood. 2005 May 15;105(10)) определили ВСМА-специфические антитела у пациентов с множественной миеломой после получения ими инфузии донорских лимфоцитов. Сыворотка этих пациентов была способна опосредовать ВСМА-специфический клеточный лизис посредством АЗКЦ и КЗЦ, что было выявлено исключительно у пациентов с противоопухолевыми ответами (4/9), но не у пациентов без ответа (0/6). Авторы предполагают, что индукция ВСМА-специфических антител способствует элиминации клеток миеломы и долгосрочной ремиссии пациентов. Ryan et al. (Mol Cancer Ther. 2007 Nov;6(11):3009-18) сообщили о создании антагонистического специфического к ВСМА антитела, которое предотвращает активацию NF-κB, которая связана с эффективным способствующим выживанию сигнальным путем в нормальных и злокачественных В-клетках.

[12] Несмотря на факт, что ВСМА; BAFF-R и TACI, т. е. рецепторы В-клеток, принадлежащие суперсемейству рецепторов TNF, и их лиганды BAFF и APRIL являются целью вариантов терапии в борьбе против рака и/или аутоиммунных нарушений, все еще существует необходимость в доступных дополнительных вариантах для лечения таких патологических состояний. Одним из таких подходов является вовлекающая Т-клетки молекула, полученная из биспецифического антитела.

Краткое описание сущности изобретения

[13] Описанные в данной области техники продлевающие время полужизни форматы (HLE-форматы (от англ. «half-life extending»)) биспецифических, вовлекающих Т-клетки, молекул, которые включают

гетеро-Fc (также обозначаемый как гетеродимерный Fc, hetFc или hFc) формат и слияние человеческого сывороточного альбумина (также обозначаемого HSA или hALB), имеют индивидуальные недостатки, такие как неспецифическая активация Т-клеток, активация комплемента, нестабильность или фармакокинетический профиль, который не соответствует необходимому продлению времени полужизни молекул. Следовательно, целью данного изобретения является обеспечение продлевающего время полужизни формата ВСМАхCD3 биспецифических, вовлекающих Т-клетки, молекул, в котором устранен по меньшей мере один и, конечно, предпочтительно более одного этих индивидуальных недостатков, наблюдаемых для молекул существующего уровня техники. Соответственно, в данном изобретении предложены конструкции антител со специфической модальностью Fc, характеризуемой содержанием первого домена, связывающегося с ВСМА, второго домена, связывающегося с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или *Macaca* (макака), и третьего домена, что соответствует специфической модальности Fc. Кроме того, в изобретении предложены полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, вектор, содержащий этот полинуклеотид, клетки-хозяева, экспрессирующие конструкцию, и содержащая вышеуказанное фармацевтическая композиция.

Описание фигур

[14] фигура 1: На ФИГ. 1a изображена диаграмма одного варианта реализации конструкции антитела согласно изобретению. На Фиг. 1b изображена конструкция антитела с гетеродимерным Fc, а на Фиг. 1c изображена конструкция X-тела, описанная в данной области техники. Указанные заряженные пары внесены для усиления гетеродимеризации. На Фиг. 1d изображен продукт слияния конструкции антитела с человеческим сывороточным альбумином (HSA/hALB).

[15] фигура 2: Оценка мишень-независимой активации Т-клеток конструкциями антител мишень А HLE BiTE®. 2(a) конструкция антитела согласно изобретению в 48 ч анализе активации человеческими МПКК (3х); серийные разведения HLE BiTE® (начиная с

20 нМ; 1:5, 7х+контроль); без или с блокированием FcR [10 мг/мл huIgG (Kiovog, Baxter)]; FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 2(b) гетеро-Fc конструкция антитела в 48 ч анализе активации человеческими МПКК и МПКК с отсутствием клеток CD14⁺/CD33⁺ (3х); серийные разведения HLE BiTE[®] (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺.

[16] Фигура 3: Оценка мишень-независимой активации Т-клеток конструкциями антител HLE BiTE[®]. 3(a) конструкция антитела к мишени В согласно изобретению в 48 ч анализе активации человеческими МПКК (3х); серийные разведения HLE BiTE[®] (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); без или с блокированием FcR [10 мг/мл huIgG (Kiovog, Baxter)]; FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 3(b) конструкция антитела мишень В гетеро-Fc в 48 ч анализе активации человеческими МПКК и МПКК с отсутствием клеток CD14⁺/CD33⁺ (3х); серийные разведения HLE BiTE[®] (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 3(c) конструкция мишень В Х-тело в 48 ч анализе активации человеческими МПКК и МПКК с отсутствием клеток CD14⁺/CD33⁺ (3х); серийные разведения HLE BiTE[®] (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 3(d) -3(f) выделенные МПКК от трех разных здоровых доноров-людей в течение 48 ч культивировали с возрастающими концентрациями биспецифических HLE-конструкций антител, специфических в отношении мишени В. Экспрессию маркера активации CD69 на Т-клетках CD4⁺ и CD8⁺ определяли методом анализа проточной цитометрии, используя конъюгированное с PE-Cy7 mAb, специфическое в отношении CD69.

[17] Фигура 4: Связывание комплемента C1q Fc-слитыми конструкциями антител BiTE[®]. Fc-слитые конструкции антител BiTE[®] (одноцепочечный Fc BiTE[®] (треугольники), гетеро-Fc BiTE[®] (квадраты), каноническое BiTE[®] (круги)) наносили на планшет Maxisorp (в серийных разведениях) перед инкубацией с объединенной человеческой сывороткой и инкубацией с

поликлональным мышинным антителом против человеческого CClq, визуализируемым козьим антимышиным Fc-AP конъюгатом.

[18] Фигура 5: Средние ФК-профили двух разных нацеленных на ВСМА конструкций антител BiTE® после введения одной дозы яванским макакам. В целях сравнения сывороточные концентрации нормализованы в отношении дозы к 15 мкг/кг и указаны в нмолях.

[19] Фигура 6: Средние ФК-профили девяти разных конструкций антител BiTE®, каждая из которых слита с продлевающим время полужизни компонентом scFc. В целях сравнения сывороточные концентрации нормализованы в отношении дозы к 15 мкг/кг и указаны в нмолях.

[20] Фигура 7: Биспецифические scFc-варианты D9F (SEQ ID NO: 105), T2G (SEQ ID NO: 106), D3L (SEQ ID NO: 107), T7I (SEQ ID NO: 108) и K6C (SEQ ID NO: 109). Предпочтительный третий домен конструкции антитела согласно данному изобретению представляет собой домен, описанный SEQ ID NO: 105.

[21] Фигура 8: Определение методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) связывания с человеческим FcRn. Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППР (Biacore) экспериментах. Максимальное связывание во время фазы инъекции измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. Средние значения двойного определения приведены на Фигуре 8А и 8В.

[22] Фигура 9: Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C и человеческое IgG1-каппа антитело MT201 исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППР (Biacore) экспериментах. Максимальное связывание во время инъекционной фазы измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. Приведены средние значения двойного определения, включая планки

погрешностей, указывающие стандартное отклонение.

Подробное описание изобретения

[23] Кроме существенного продления времени полужизни биспецифических конструкций антител согласно изобретению, слияние специфической модальности Fc также отвечает за неожиданное существенное воздействие на первый и второй связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению. Таким образом, тогда как другие продлевающие время полужизни модальности, вовлекающих Т-клетки, конструкций антител демонстрируют индивидуальные предпочтительные черты, выбор представленной специфической модальности Fc позволяет обеспечивать биспецифические молекулы, которые, как правило, демонстрируют широкий спектр предпочтительных характеристик функционального молекулярного формата и, следовательно, делают возможной разработку перспективных фармацевтических композиций.

[24] Таким образом, в данном изобретении предложена конструкция антитела, содержащая:

первый домен, который связывается с ВСМА,

второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или *Macasa*; и

третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирную область, домен CH2 и домен CH3, причем указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера.

[25] Термин «конструкция антитела» относится к молекуле, чья структура и/или функция основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина, и/или получены из переменных доменов тяжелой цепи (VH) и/или переменных доменов легкой цепи (VL) антитела или его фрагмента. Следовательно, конструкция антитела способна связываться со своей специфической мишенью или антигеном. Кроме того, связывающий домен конструкции антитела в соответствии с изобретением содержит минимальные структурные требования антитела, которые обеспечивают связывание мишени. Это минимальное требование может, например, определяться наличием по

меньшей мере трех CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 VL-области) и/или трех CDR тяжелой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 VH-области), предпочтительно всех шести CDR. Альтернативным подходом для определения минимальных структурных требований антитела является определение эпитопа антитела в пределах структуры специфической мишени, соответственно, белкового домена белка-мишени, составляющего область эпитопа (кластер эпитопа), или путем указания специфического антитела, конкурирующего за эпитоп определенного антитела. Антитела, на которых основаны конструкции в соответствии с изобретением, включают, например, моноклональные, рекомбинантные, химерные, деиммунизированные, гуманизированные и человеческие антитела.

[26] Связывающий домен конструкции антитела в соответствии с изобретением может, например, содержать вышеуказанные группы CDR. Предпочтительно CDR находятся в каркасной области вариабельной области легкой цепи (VL) антитела и вариабельной области тяжелой цепи (VH) антитела; однако оно не обязано содержать их обе. Fd-фрагменты, например, имеют две VH-области и часто сохраняют в некоторой мере антигенсвязывающую функцию интактного антигенсвязывающего домена. Дополнительные примеры формата фрагментов антител, вариантов антител или связывающих доменов включают (1) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, содержащий домены VL, VH, CL и CH1; (2) фрагмент F(ab')₂, бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанные дисульфидным мостиком в шарнирной области; (3) фрагмент Fd, содержащий два домена VH и домен CH1; (4) фрагмент Fv, содержащий домены VL и VH одного плеча антитела, (5) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), который содержит домен VH; (6) выделенную определяющую комплементарность область (CDR) и (7) одноцепочечный Fv (scFv), причем последний является предпочтительным (например, полученным из scFV-библиотеки). Примеры вариантов реализации конструкций антител в соответствии с изобретением описаны, например, в WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO 2014/144722, WO 2014/151910 и WO 2015/048272.

[27] Также в рамках определения «связывающий домен» или «домен, который связывает» находятся фрагменты полноразмерных антител, такие как VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab', F(ab')₂ или «r IgG» («полуантитело»). Конструкции антител в соответствии с изобретением также могут содержать модифицированные фрагменты антител, также называемые вариантами антител, такие как scFv, di-scFv или bi(s)-scFv, scFv-Fc, scFv-молния, scFab, Fab₂, Fab₃, диатела, одноцепочечные диатела, tandemные диатела (Tandab's), tandemные di-scFv, tandemные tri-scFv, «мультитела», такие как триатела или тетратела, и однодоменные антитела, такие как нанотела или антитела с одним переменным доменом, содержащие только один переменный домен, который может быть VHH, VH или VL, которые специфически связывают антиген или эпитоп независимо от других V-областей или доменов.

[28] В контексте данного документа термины «одноцепочечный Fv», «одноцепочечные антитела» или «scFv» относятся к содержащим одну полипептидную цепь фрагментам антител, которые содержат переменные области как из тяжелой, так и из легкой цепей, но в которых отсутствуют константные области. В общем случае одноцепочечное антитело дополнительно содержит полипептидный линкер между VH- и VL-доменами, который обеспечивает возможность образования необходимой структуры, которая позволяет связывать антиген. Одноцепочечные антитела подробно обсуждаются Pluckthun в *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994). Известны различные способы создания одноцепочечных антител, включая описанные в патентах США № 4694778 и 5260203; публикации заявки на международный патент № WO 88/01649; Bird (1988) *Science* 242:423-442; Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Ward et al. (1989) *Nature* 334:544-548; Skerra et al. (1988) *Science* 242:1038-1041. В конкретных вариантах реализации одноцепочечные антитела также могут быть биспецифическими, мультиспецифическими, человеческими и/или гуманизированными и/или синтетическими.

[29] Кроме того, определение термина «конструкция антитела» включает моновалентные, бивалентные и поливалентные/мультивалентные конструкции и, следовательно, биспецифические конструкции, специфически связывающиеся только с двумя антигенными структурами, а также полиспецифические/мультиспецифические конструкции, которые специфически связывают более двух антигенных структур, например, три, четыре или более, посредством разных связывающих доменов. Более того, определение термина «конструкция антитела» включает молекулы, состоящие из только одной полипептидной цепи, а также молекулы, состоящие из более чем одной полипептидной цепи, причем цепи могут быть идентичными (гомодимеры, гомотримеры или гомоолигомеры) или разными (гетеродимеры, гетеротримеры или гетероолигомеры). Примеры определенных выше антител и их вариантов или производных описаны, *помимо прочего*, в Harlow and Lane, *Antibodies a laboratory manual*, CSHL Press (1988) and Using Antibodies: a laboratory manual, CSHL Press (1999), Kontermann and Dübel, *Antibody Engineering*, Springer, 2nd ed. 2010 и Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009.

[30] В контексте данного документа термин «биспецифический» относится к конструкции антитела, которая является «по меньшей мере биспецифической», т. е. содержит по меньшей мере первый связывающий домен и второй связывающий домен, причем первый связывающий домен связывается с одним антигеном или мишенью (в данном случае: ВСМА), второй связывающий домен связывается с другим антигеном или мишенью (в данном случае: CD3). Соответственно, конструкции антител в соответствии с изобретением имеют специфичность в отношении по меньшей мере двух разных антигенов или мишеней. Например, первый домен предпочтительно не связывается с внеклеточным эпитопом CD3ε одного или более видов, описанных в данном документе. Термин «антиген-мишень клеточной поверхности» относится к антигенной структуре, экспрессируемой клеткой, которая находится на клеточной поверхности, то есть, доступна для описанной в данном

документе конструкции антитела. Он может являться белком, предпочтительно внеклеточной частью белка, или углеводной структурой, предпочтительно углеводной структурой белка, такой как гликопротеин. Предпочтительно он является опухолевым антигеном. Термин «биспецифическая конструкция антитела» согласно изобретению также включает мультиспецифические конструкции антител, такие как триспецифические конструкции антител, содержащие три связывающих домена, или конструкции, имеющие более трех (например, четыре, пять...) специфичностей.

[31] Учитывая, что конструкции антител в соответствии с изобретением являются (по меньшей мере) биспецифическими, они не присутствуют в природе и заметно отличаются от продуктов природного происхождения. Следовательно, «биспецифическая» конструкция антитела или иммуноглобулина представляет собой искусственное гибридное антитело или иммуноглобулин, имеющее по меньшей мере два разных связывающих участка с разной специфичностью. Биспецифические конструкции антител можно получать различными способами, включая слияние гибридом или связывание фрагментов Fab'. Смотрите, например, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990).

[32] По меньшей мере два связывающих домена и переменные домены (VH/VL) конструкции антитела согласно данному изобретению могут содержать или не содержать пептидные линкеры (спейсерные пептиды). Термин «пептидный линкер» в соответствии с настоящим изобретением включает аминокислотную последовательность, посредством которой связаны между собой аминокислотные последовательности одного (переменного и/или связывающего) домена и другого (переменного и/или связывающего) домена конструкции антитела. Пептидные линкеры также можно использовать для слияния третьего домена с другими доменами конструкции антитела согласно изобретению. Важной технической характеристикой такого пептидного линкера является то, что у него отсутствует полимеризационная активность. К подходящим пептидным линкерам относятся описанные в патентах США 4751180 и 4935233 или WO 88/09344. Пептидные линкеры также можно

использовать для присоединения других доменов или модулей или областей (таких как продлевающие время полужизни домены) к конструкции антитела согласно изобретению.

[33] Конструкции антител согласно изобретению предпочтительно являются «*in vitro* созданными конструкциями антител». Этот термин относится к конструкции антитела в соответствии с вышеприведенным определением, в которой вся или часть вариабельной области (например, по меньшей мере одна CDR) создана посредством отбора неиммунной клетки, например, *in vitro* фагового дисплея, белкового чипа или любого другого способа, в котором кандидатные последовательности можно исследовать в отношении их способности связываться с антигеном. Предпочтительно этот термин исключает последовательности, созданные исключительно путем геномной перестройки в иммунной клетке животного. «Рекомбинантное антитело» представляет собой антитело, созданное посредством применения технологии рекомбинантных ДНК или генетической инженерии.

[34] В контексте данного документа термин «моноклональное антитело» (mAb) или моноклональная конструкция антитела относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т. е. отдельные антитела, составляющие популяцию являются идентичными за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, будучи направленными против одного антигенного участка или детерминанты на антигене, в противоположность препаратам традиционных (поликлональных) антител, которые, как правило, содержат разные антитела, направленные против разных детерминант (или эпитопов). Кроме своей специфичности, преимуществом моноклональных антител является то, что их синтезируют с помощью гибридомной культуры, следовательно, они не содержат примесей других иммуноглобулинов. Обстоятельство «моноклональное» указывает на характер антитела, как полученного из по существу гомогенной популяции антител, и его не следует воспринимать, как требующее получения антитела

каким-либо конкретным способом.

[35] Для получения препарата моноклональных антител можно использовать любой способ, обеспечивающий получение антител с помощью стабильных культур клеточных линий. Например, предназначенные для применения моноклональные антитела можно создавать методом гибридомы, впервые описанным Koehler *et al.*, *Nature*, 256: 495 (1975), или можно создавать методами рекомбинантных ДНК (смотрите, например, патент США № 4816567). Примеры дополнительных методик для получения человеческих моноклональных антител включают методику триомы, методику человеческой В-клеточной гибридомы (Kozbor, *Immunology Today* 4 (1983), 72) и методику ВЭБ-гибридомы (Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).

[36] После этого можно проводить скрининг гибридом стандартными методами, таким как иммуноферментный анализ (ИФА) и анализ методом поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore™), для выявления одной или более гибридом, которые вырабатывают антитело, которое специфически связывается с конкретным антигеном. В качестве иммуногена можно использовать любую форму соответствующего антигена, например, рекомбинантный антиген, природные формы, любые их варианты или фрагменты, а также их антигенные пептиды. Поверхностный плазмонный резонанс, применяемый в системе BIAcore, можно использовать для повышения активности фаговых антител, которые связываются с эпитопом антигена-мишени клеточной поверхности (Schier, *Human Antibodies Hybridomas* 7 (1996), 97-105; Malmberg, *J. Immunol. Methods* 183 (1995), 7-13).

[37] Другой типовой метод получения моноклональных антител включает скрининг библиотек белковой экспрессии, например, библиотек фагового дисплея или рибосомного дисплея. Фаговый дисплей описан, например, в Ladner *et al.*, патенте США № 5223409; Smith (1985) *Science* 228:1315-1317, Clackson *et al.*, *Nature*, 352: 624-628 (1991) и Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 (1991).

[38] Кроме применения дисплейных библиотек соответствующий антиген можно использовать для иммунизации отличного от человека животного, *например*, грызуна (такого как мышь, хомяк, кролик или крыса). В одном варианте реализации изобретения отличное от человека животное содержит по меньшей мере часть гена человеческого иммуноглобулина. *Например*, можно сконструировать мышинные штаммы с дефицитом выработки мышинового антитела с крупными фрагментами локусов человеческого Ig (иммуноглобулина). Используя технологию гибридомы, можно получать и проводить отбор антиген-специфических моноклональных антител, полученных из генов с необходимой специфичностью. Смотрите, *например*, XENOMOUSE™, Green *et al.* (1994) Nature Genetics 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096 и WO 96/33735.

[39] Моноклональное антитело также можно получить от отличного от человека животного, а затем модифицировать, *например*, гуманизировать, деиммунизировать, сделать химерными и т. д., используя известную в данной области техники технологию рекомбинантных ДНК. Примеры модифицированных конструкций антител включают гуманизированные варианты нечеловеческих антител, антитела «с созревшей аффинностью» (смотрите, *например*, Hawkins *et al.* J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) и Lowman *et al.*, Biochemistry 30, 10832- 10837 (1991)) и мутантные антитела с измененной (ыми) эффекторной (ыми) функцией (ями) (смотрите, *например*, патент США 5648260, Kontermann and Dübel (2010), *loc. cit.* и Little (2009), *loc. cit.*).

[40] В иммунологии созревание аффинности – это процесс, посредством которого В-клетки вырабатывают антитела с повышенной аффинностью в отношении антигена во время иммунного ответа. При повторном воздействии такого же антигена организм-хозяин будет вырабатывать антитела со все большей аффинностью. Как и природный прототип, *in vitro* созревание аффинности основано на принципах мутации и отбора. *In vitro* созревание аффинности успешно применяли для оптимизации антител, конструкций антител и фрагментов антител. Случайные мутации внутри CDR вводят, используя облучение, химические мутагены или ПЦР с внесением

ошибок. Кроме того, генетическое разнообразие можно повышать путем перестановки цепей. Два или три цикла мутации и отбора с применением дисплейных методов, таких как фаговый дисплей, обычно приводят к получению фрагментов антител с аффинностью в узком наномолярном диапазоне.

[41] Предпочтительный тип вариации конструкций антител с аминокислотными заменами включает замещение одного или более остатков гипервариабельной области родительского антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). В общем случае полученные в результате варианты, отобранные для дополнительной разработки, должны иметь улучшенные биологические свойства относительно родительского антитела, из которого они получены. Удобный путь создания таких заместительных вариантов включает созревание аффинности с применением фагового дисплея. Вкратце, мутируют несколько участков гипервариабельной области (например, 6–7 участков) для создания всех возможных аминокислотных замен в каждом участке. Созданные таким образом варианты антител отображаются моновалентным образом из частиц нитевидного фага в виде продуктов слияния с продуктом гена III M13, упакованных в каждой частице. Затем проводят скрининг отображенных фагом вариантов в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания), как описано в данном документе. Чтобы определить кандидатные участки гипервариабельной области для проведения модификации, можно проводить аланин-сканирующий мутагенез для определения остатков гипервариабельной области, которые вносят существенный вклад в связывание антигена. В альтернативном или дополнительном варианте может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта между связывающим доменом и, например, человеческим ВСМА. Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами для проведения замен в соответствии с применяемыми в данном документе методиками. После создания таких вариантов панель вариантов подвергают описанному в данном документе скринингу, а антитела с превосходящими свойствами в одном или более релевантном анализе отбирают для дополнительной

разработки.

[42] Моноклональные антитела и конструкции антител согласно данному изобретению включают, в частности, «химерные» антитела (иммуноглобулины), в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична с соответствующими последовательностями в антителах, полученных от конкретного вида или принадлежащих конкретному классу или подклассу антител, тогда как остаток цепи (ей) идентичен или гомологичен соответствующим последовательностям в антителах, полученных от другого вида или принадлежащих другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, в том случае, если они проявляют необходимую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Представляющие в данном случае интерес химерные антитела включают «приматизированные» антитела, содержащие антигенсвязывающие последовательности переменного домена, полученные от отличного от человека примата (например, марьшики Старого Света, обезьяны и т. д.), и человеческие последовательности константной области. Было описано множество подходов для создания химерных антител. Смотрите, например, Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda et al., Nature 314:452, 1985, Cabilly et al., U.S. Patent No. 4,816,567; Boss et al., патент США № 4816397; Taniguchi et al., EP 0171496; EP 0173494; и GB 2177096.

[43] Антитело, конструкцию антитела, фрагмент антитела или вариант антитела также можно модифицировать путем специального удаления человеческих Т-клеточных эпитопов (метод, называемый «деиммунизацией») способами, описанными, например, в WO 98/52976 или WO 00/34317. Вкратце, переменные домены тяжелой и легкой цепи антитела можно проанализировать в отношении наличия пептидов, которые связываются с ГКГС класса II; эти пептиды представляют потенциальные Т-клеточные эпитопы (по определению в WO 98/52976 и WO 00/34317). Для выявления потенциальных Т-клеточных эпитопов можно применять подход компьютерного моделирования, называемый «пептидным протягиванием», и, дополнительно, можно проводить поиск по базе данных пептидов,

связывающих человеческий ГКГС класса II, в отношении мотивов, присутствующих в последовательностях VH и VL, как описано в WO 98/52976 и WO 00/34317. Эти мотивы связываются с любым из 18 основных DR-аллотипов ГКГС класса II и, таким образом, составляют потенциальные Т-клеточные эпитопы. Выявленные потенциальные Т-клеточные эпитопы можно устранить посредством замены небольшого количества аминокислотных остатков в переменных доменах или, предпочтительно, посредством одиночных аминокислотных замен. Как правило, осуществляют консервативные замены. Часто, но не исключительно, может использоваться аминокислота, обычно присутствующая в данной позиции в последовательностях антител человеческой зародышевой линии. Последовательности человеческой зародышевой линии описаны, например, в Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; и Tomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 14:4628-4638. Директория V BASE представляет исчерпывающую директорию последовательностей переменных областей человеческого иммуноглобулина (составлена Tomlinson, LA. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK). Эти последовательности можно использовать в качестве источника человеческих последовательностей, например, каркасных областей или CDR. Также можно использовать консенсусные человеческие каркасные области, например, описанные в патенте США № 6300064.

[44] «Гуманизированные» антитела, конструкции антител, их варианты или фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител) представляют собой антитела или иммуноглобулины большей частью человеческих последовательностей, которые содержат (а) минимальную (ые) последовательность (и), полученную (ые) из нечеловеческого иммуноглобулина. Большой частью гуманизированные антитела являются человеческими иммуноглобулинами (реципиентное антитело), в которых остатки из гипервариабельной области (также CDR) реципиента замещены остатками из гипервариабельной области нечеловеческого (например, грызуна) вида (донорское антитело), такого как мышь, крыса, хомяк или кролик, имеющими необходимую

специфичность, аффинность и емкость. В некоторых случаях остатки Fv каркасной области (FR) человеческого иммуноглобулина замещены соответствующими нечеловеческими остатками. Кроме того, в контексте данного документа «гуманизированные антитела» также могут содержать остатки, не присущие ни реципиентному антителу, ни донорскому антителу. Эти модификации проводят для дополнительного улучшения и оптимизации характеристик антитела. Гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, из человеческого иммуноглобулина. Дополнительные подробности смотрите в Jones *et al.*, *Nature*, 321: 522-525 (1986); Reichmann *et al.*, *Nature*, 332: 323-329 (1988); и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2: 593-596 (1992).

[45] Гуманизированные антитела или их фрагменты можно создавать, замещая последовательности переменного домена Fv, которые не принимают прямого участия в связывании антигена, эквивалентными последовательностями из человеческих переменных доменов Fv. Типовые способы создания гуманизированных антител или их фрагментов предложены в Morrison (1985) *Science* 229:1202-1207; в Oi *et al.* (1986) *BioTechniques* 4:214; и в US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 5859205; и US 6407213. Эти способы включают выделение, обработку и экспрессию нуклеотидных последовательностей, которые кодируют все или часть переменных доменов Fv иммуноглобулина из по меньшей мере одной из тяжелой или легкой цепи. Такие нуклеиновые кислоты можно получить из гибридомы, вырабатывающей антитело против заданной мишени, как описано выше, а также из других источников. Затем рекомбинантную ДНК, кодирующую молекулу гуманизированного антитела, можно клонировать в соответствующий экспрессионный вектор.

[46] Гуманизированные антитела также можно получать, используя трансгенных животных, таких как мыши, которые экспрессируют гены человеческой тяжелой и легкой цепи, но не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелой и легкой цепи мышиного иммуноглобулина. Winter описывает типовой способ прививания CDR, который можно использовать для получения описанных в данном документе гуманизированных антител (патент

США № 5225539). Все CDR конкретного человеческого антитела могут быть замещены по меньшей мере частью нечеловеческой CDR или только некоторые CDR могут быть замещены нечеловеческими CDR. Необходимо лишь заменить то количество CDR, которое требуется для связывания гуманизированного антитела с заданным антигеном.

[47] Гуманизированное антитело можно оптимизировать путем внесения консервативных замен, замен консенсусной последовательности, замен зародышевой линии и/или обратных мутаций. Такие измененные молекулы иммуноглобулина можно создавать с помощью любой из нескольких методик, известных в данной области техники (например, Teng *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor *et al.*, Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson *et al.*, Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, и EP 239 400).

[48] Термин «человеческое антитело», «человеческая конструкция антитела» и «человеческий связывающий домен» включает антитела, конструкции антител и связывающие домены, имеющие области антитела, такие как переменные и константные области или домены, которые по существу соответствуют известным в данной области техники последовательностям иммуноглобулина человеческой зародышевой линии, включая, например, описанные в Kabat *et al.* (1991) (*loc. cit.*). Человеческие антитела, конструкции антител или связывающие домены согласно изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина человеческой зародышевой линии (например, мутации, внесенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR, и, в частности, в CDR3. Человеческие антитела, конструкции антител или связывающие домены могут содержать по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или более позиций, замещенных аминокислотным остатком, не кодируемым последовательностью иммуноглобулина человеческой зародышевой линии. При этом в контексте данного документа определение человеческих антител, конструкций антител и связывающих доменов также подразумевает «полностью человеческие антитела», которые содержат только искусственно

и/или генетически не измененные человеческие последовательности антител, такие как те, которые можно получить, используя технологии или системы, такие как Xenomouse. Предпочтительно «полностью человеческое антитело» не содержит аминокислотных остатков, не кодируемых последовательностями иммуноглобулина человеческой зародышевой линии.

[49] В некоторых вариантах реализации конструкции антител согласно изобретению являются «выделенными» или «по существу чистыми» конструкциями антител. При употреблении для описания представленных в данном документе конструкций антител «выделенная» или «по существу чистая» обозначает конструкцию антитела, которая была определена, отделена и/или изолирована от компонента среды, в которой она вырабатывается. Предпочтительно конструкция антитела не связана или по существу не связана со всеми другими компонентами из среды, в которой она вырабатывается. Примесные компоненты среды, в которой происходит выработка, такие как остаются от рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые, как правило, мешают диагностическому или терапевтическому применению полипептида, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. Конструкции антител могут, например, составлять по меньшей мере около 5% или по меньшей мере около 50% по массе от общего белка в данном образце. Понятно, что выделенный белок может составлять от 5% до 99,9% по массе от общего содержания белка в зависимости от обстоятельств. Полипептид можно получать в существенно большей концентрации посредством применения индуцибельного промотора или промотора высокой экспрессии так, чтобы он производился на повышенном концентрационном уровне. Данное определение включает получение конструкции антитела в широком ряде организмов и/или клеток-хозяев, которые известны в данной области техники. В предпочтительных вариантах реализации изобретения конструкцию антитела очищают (1) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (2) до гомогенности по

ДСН-ПААГ в невозстановительных или восстановительных условиях с применением окрашивания голубым кумасси или, предпочтительно, серебром. При этом обычно конструкцию антитела получают с помощью по меньшей мере одного этапа очистки.

[50] Термин «связывающий домен» в связи с настоящим изобретением характеризует домен, который (специфически) связывает/взаимодействует с/распознает данный эпитоп-мишень или данный участок-мишень на молекулах-мишенях (антигенах), в данном случае: ВСМА и CD3 соответственно. Структура и функция первого связывающего домена (распознающего ВСМА) и предпочтительно также структура и/или функция второго связывающего домена (распознающего CD3) основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина, и/или получены из переменных доменов тяжелой цепи (VH) и/или переменных доменов легкой цепи (VL) антитела или его фрагмента. Предпочтительно первый связывающий домен характеризуется наличием трех CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 VL-области) и/или трех CDR тяжелой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 VH-области). Второй связывающий домен предпочтительно также содержит минимальные структурные требования антитела, которые обеспечивают связывание мишени. Более предпочтительно второй связывающий домен содержит по меньшей мере три CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 VL-области) и/или три CDR тяжелой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 VH-области). Подразумевается, что первый и/или второй связывающий домен производят или получают методами фагового дисплея или скрининга библиотек, а не путем прививания последовательностей CDR из предсуществующего (моноклонального) антитела в каркас.

[51] В соответствии с настоящим изобретением связывающие домены имеют форму одного или более полипептидов. Такие полипептиды могут содержать белковые части и небелковые части (например, химические линкеры или химические перекрестно-сшивающие агенты, такие как глутаральдегид). Белки (включая их фрагменты, предпочтительно биологически активные фрагменты, и пептиды, обычно имеющие менее 30 аминокислот) содержат две или более аминокислоты, соединенные друг с другом ковалентной

пептидной связью (что приводит к получению цепи из аминокислот).

[52] В контексте данного документа термин «полипептид» описывает группу молекул, которая обычно состоит из более чем 30 аминокислот. Полипептиды могут дополнительно образовывать мультимеры, такие как димеры, тримеры и высшие олигомеры, т. е. состоящие из более чем одной полипептидной молекулы. Полипептидные молекулы, образующие такие димеры, тримеры и т. д., могут быть идентичными или неидентичными. Соответствующие структуры высшего порядка таких мультимеров, соответственно, называются гомо- или гетеродимерами, гомо- или гетеротримерами и т. д. Примером гетеромультимера является молекула антитела, которая в своей природной форме состоит из двух идентичных легких полипептидных цепей и двух идентичных тяжелых полипептидных цепей. Термины «пептид», «полипептид» и «белок» также относятся в модифицированным естественным образом пептидам/полипептидам/белкам, в которых модификация обусловлена, например, посттрансляционными модификациями, такими как гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование и тому подобное. В контексте данного документа «пептид», «полипептид» или «белок» также могут быть химически модифицированными, например, пэгиллированными. Такие модификации хорошо известны в данной области техники и описаны ниже в данном документе.

[53] Предпочтительно связывающий домен, который связывается с ВСМА, и/или связывающий домен, который связывается с CD3ε, является/являются человеческими связывающими доменами. Антитела и конструкции антител, содержащие по меньшей мере один человеческий связывающий домен, позволяют избежать некоторых проблем, связанных с антителами или конструкциями антител, которые обладают нечеловеческими, например, принадлежащими грызуну (например, мыши, крысе, хомяку или кролику), переменными и/или константными областями. Присутствие таких белков из организма грызуна может приводить к быстрому выведению антител или конструкций антител или может приводить к генерации иммунного ответа против антитела или конструкции антитела у пациента. Чтобы избежать применения полученных от грызунов

антител или конструкций антител, можно создавать человеческие или полностью человеческие антитела/конструкции антител путем внесения в организм грызуна функции человеческого антитела так, чтобы у грызуна вырабатывались полностью человеческие антитела.

[54] Возможность клонировать и восстанавливать человеческие локусы размером порядка миллиона пар оснований в YAC и вносить их в мышиную зародышевую линию обеспечивает эффективный подход для изучения функциональных компонентов очень больших или грубо картированных локусов, а также для создания полезных моделей человеческих заболеваний. Кроме того применение такой технологии для замещения мышинных локусов их человеческими эквивалентами может обеспечить уникальную информацию об экспрессии и регулировании человеческих генных продуктов во время развития, их взаимодействии с другими системами и их роли в индукции и прогрессировании заболеваний.

[55] Важным практическим применением такой стратегии является «гуманизация» мышинной гуморальной иммунной системы. Внесение локусов человеческого иммуноглобулина (Ig) в организм мышей, у которых были инактивированы эндогенные гены Ig, обеспечивает возможность для изучения механизмов, лежащих в основе программируемой экспрессии и сборки антител, а также их роли в развитии В-клеток. Кроме того, такая стратегия может обеспечить идеальный источник для получения полностью человеческих моноклональных антител (mAb) – ключевой точки в направлении выполнения обещания создания терапии на основе антител для человеческих заболеваний. Ожидается, что полностью человеческие антитела или конструкции антител сведут к минимуму иммуногенные и аллергические ответы, свойственные мышинным или полученным от мышей mAb, и, следовательно, повысят эффективность и безопасность вводимых антител/конструкций антител. Можно ожидать, что применение полностью человеческих антител или конструкций антител обеспечит существенное преимущество в лечении хронических и рецидивных человеческих заболеваний, таких как воспаление, аутоиммунность и рак, при которых требуются повторные введения соединений.

[56] Один подход в направлении этой цели состоял в

конструировании мышинных штаммов с дефицитом выработки мышинных антител с большими фрагментами локусов человеческого Ig в ожидании, что такие мыши будут вырабатывать широкий репертуар человеческих антител в отсутствие мышинных антител. Большие фрагменты человеческого Ig должны сохранять широкое разнообразие переменных генов, а также надлежащее регулирование выработки и экспрессии антитела. При применении мышинного аппарата для расширения разнообразия и отбора антител и отсутствии иммунологической толерантности к человеческим белкам, воспроизведенный репертуар человеческих антител в этих мышинных штаммах должен привести к получению высокоаффинных антител против представляющего интерес антигена, включая человеческие антигены. Используя технологию гибридомы, можно легко получать и проводить отбор антиген-специфических человеческих mAb с необходимой специфичностью. Эта общая стратегия была продемонстрирована в связи с созданием первых мышинных штаммов XenoMouse (смотрите Green et al. Nature Genetics 7:13-21 (1994)). Были сконструированы штаммы XenoMouse с дрожжевыми искусственными хромосомами (YAC), содержащими фрагменты размером 245 т. п. о. и 190 т. п. о. конфигурации зародышевой линии человеческого локуса тяжелой цепи и локуса каппа легкой цепи соответственно, которые содержали внутренние последовательности переменной и константной области. Содержащие человеческий Ig YAC, оказались совместимыми с мышинной системой в отношении как перестройки, так и экспрессии антител, и были способны замещать инактивированные гены мышинного Ig. Это было продемонстрировано их способностью индуцировать развитие В-клеток, вырабатывать человеческий репертуар взрослого типа полностью человеческих антител и генерировать антиген-специфические человеческие mAb. Эти результаты также позволяют предположить, что внесение больших частей локусов человеческого Ig, содержащих большее количество V-генов, дополнительных регуляторных элементов и константных областей человеческого Ig, может воспроизводить по существу полный репертуар, характерный для человеческого гуморального ответа на инфекцию и иммунизацию. Работа Green et al. Была недавно расширена до внесения более чем приблизительно

80% человеческого репертуара антител путем внесения фрагментов YAC размером порядка миллиона пар оснований конфигурации зародышевой линии человеческого локуса тяжелой цепи и локуса каппа легкой цепи соответственно. Смотрите Mendez *et al.* Nature Genetics 15:146-156 (1997) и заявку на патент США, серийный № 08/759620.

[57] Получение мышей XenoMouse дополнительно обсуждается и описывается в заявках на патент США, серийный № 07/466008, серийный № 07/610515, серийный № 07/919 297, серийный № 07/922649, серийный № 08/031801, серийный № 08/112848, серийный № 08/234145, серийный № 08/376279, серийный № 08/430938, серийный № 08/464584, серийный № 08/464582, серийный № 08/463191, серийный № 08/462837, серийный № 08/486853, серийный № 08/486857, серийный № 08/486859, серийный № 08/462513, серийный № 08/724752, и серийный № 08/759620; и патентах США № 6162963; 6150584; 6114598; 6075181 и 5,939598, и патентах Японии № 3 068 180 B2, 3 068 506 B2 и 3 068 507 B2. Смотрите также Mendez *et al.* Nature Genetics 15:146-156 (1997) и Green and Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998), EP 0 463 151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310 и WO 03/47336.

[58] В альтернативном подходе другие, включая GenPharm International, Inc., использовали подход «минилокуса». В подходе минилокуса локус экзогенного Ig имитируют путем включения кусочков (отдельных генов) из локуса Ig. Таким образом, один или более генов VH, один или более генов DH, один или более генов JH, мю константная область и вторая константная область (предпочтительно гамма константная область) образуют конструкцию для вставки в организм животного. Этот подход описан в патенте США № 5545807 авторства Surani *et al.* и патентах США № 5545806; 5625825; 5625126; 5633425; 5661016; 5770429; 5789650; 5814318; 5877397; 5874299; и 6255458, каждый авторства Lonberg и Kay, патентах США № 5591669 и 6023010 авторства Krimpenfort и Berns, патентах США № 5612205; 5721367; и 5789215 авторства Berns *et al.*, и патенте США № 5643763 авторства Choi и Dunn, и заявке на патент США от GenPharm International, серийный № 07/574748, серийный № 07/575962, серийный № 07/810279, серийный №

07/853408, серийный № 07/904068, серийный № 07/990860, серийный № 08/053131, серийный № 08/096762, серийный № 08/155301, серийный № 08/161739, серийный № 08/165699, серийный № 08/209741. Также смотрите EP 0 546 073 B1, WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852 и WO 98/24884 и патент США № 5981175. Смотрите также Taylor et al. (1992), Chen et al. (1993), Tuailon et al. (1993), Choi et al. (1993), Lonberg et al. (1994), Taylor et al. (1994) и Tuailon et al. (1995), Fishwild et al. (1996).

[59] Kirin также продемонстрировал создание человеческих антител с применением мышей, которым были внесены большие куски хромосом или целые хромосомы посредством микроклеточной инфузии. Смотрите заявки на Европейский патент № 773 288 и 843 961. Xenex Biosciences разрабатывают технологию для потенциального создания человеческих антител. В этой технологии мышей ТКД восстанавливают с помощью человеческих лимфатических клеток, например, В- и/или Т-клеток. Затем мышей иммунизируют антигеном и они могут генерировать иммунный ответ против этого антигена. Смотрите патенты США № 5476996; 5698767; и 5958765.

[60] Ответы человеческого антимышиного антитела (НАМА) привели данную отрасль к созданию химерных или иным образом гуманизированных антител. При этом ожидается, что будут наблюдаться ответы некоторых человеческих анти-химерных антител (НАСА), в частности, при постоянном или многодозовом применении антитела. Таким образом, было бы желательно предоставить конструкции антител, содержащие человеческий связывающий домен против ВСМА и человеческий связывающий домен против CD3ε, чтобы опровергнуть сомнения относительно и/или результаты ответов НАМА или НАСА.

[61] Термины «(специфически) связывается с», «(специфически) распознает», «(специфически) направлен на» и «(специфически) реагирует с» означают в соответствии с этим изобретением, что связывающий домен взаимодействует или специфически взаимодействует с данным эпитопом или данным

участком-мишенью на молекулах-мишенях (антигенах), в данном случае: ВСМА и CD3ε соответственно.

[62] Термин «эпитоп» относится к участку на антигене, с которым специфически связывается связывающий домен, такой как антитело или иммуноглобулин, или производное, фрагмент или вариант антитела или иммуноглобулина. «Эпитоп» является антигенным и, следовательно, в данном документе термин эпитоп иногда называется «антигенной структурой» или «антигенной детерминантой». Таким образом, связывающий домен является «участком взаимодействия с антигеном». Также подразумевается, что указанное связывание/взаимодействие определяет «специфическое распознавание».

[63] «Эпитопы» могут быть образованы как смежными аминокислотами, так и не смежными аминокислотами, расположенными рядом в результате сворачивания белка в третичную структуру. «Линейный эпитоп» представляет собой эпитоп, в котором первичная аминокислотная последовательность содержит распознаваемый эпитоп. Линейный эпитоп, как правило, содержит по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4, и чаще по меньшей мере 5 или по меньшей мере 6, или по меньшей мере 7, например, от около 8 до около 10 аминокислот в уникальной последовательности.

[64] «Конформационный эпитоп», в противоположность линейному эпитопу, представляет собой эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот, составляющих эпитоп, не является единственным определяющим компонентом распознаваемого эпитопа (например, эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот не обязательно распознается связывающим доменом). Как правило, конформационный эпитоп содержит большее количество аминокислот по сравнению с линейным эпитопом. В отношении распознавания конформационных эпитопов связывающий домен распознает трехмерную структуру антигена, предпочтительно пептид или белок или его фрагмент (в контексте данного изобретения антигенная структура для одного из связывающих доменов содержится в рамках целевого белка антигена клеточной поверхности). Например, когда молекула белка

сворачивается с образованием трехмерной структуры, определенные аминокислоты и/или полипептидный скелет, образующие конформационный эпитоп, оказываются расположены рядом, что делает возможным распознавание эпитопа антителом. Способы определения конформации эпитопов включают, но не ограничиваются этим, рентгеноструктурную кристаллографию, спектроскопию на основе двухмерного ядерного магнитного резонанса (2D-ЯМР) и спектроскопию на основе сайт-направленных спиновых меток и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

[65] Способ картирования эпитопов описан следующим образом: Когда область (непрерывный участок аминокислот) в человеческом белке ВСМА заменяют/замещают соответствующей областью ВСМА, не принадлежащего человеку и примату (например, мышинного ВСМА, хотя допускаются также и другие, такие как куриные, крысиные, хомячьи, кроличьи и т. д.), ожидается, что произойдет снижение в связывании связывающего домена, если связывающий домен не является перекрестно реагирующим в отношении применяемого ВСМА, не принадлежащего человеку и примату. Указанное снижение предпочтительно составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40% или 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60%, 70% или 80%, и наиболее предпочтительно 90%, 95% или даже 100% по сравнению со связыванием с соответствующей областью в человеческом белке ВСМА, причем связывание с соответствующим человеческим белком ВСМА устанавливается как 100%. Подразумевается, что вышеуказанные химерные структуры человеческого ВСМА/нечеловеческий ВСМА экспрессируются в клетках СНО. Также подразумевается, что химерные структуры человеческого ВСМА/нечеловеческий ВСМА слиты с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом отличного мембраносвязанного белка, такого как ЕрСАМ.

[66] В альтернативном или дополнительном способе картирования эпитопов можно создавать несколько усеченных версий внеклеточного домена человеческого ВСМА, чтобы определить конкретную область, которая распознается связывающим доменом. В этих усеченных версиях поэтапно удаляют разные внеклеточные домены/субдомены или области ВСМА, начиная с N-конца.

Подразумевается, что усеченные версии ВСМА можно экспрессировать в клетках CHO. Также подразумевается, что усеченные версии ВСМА можно сливать с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом отличного мембраносвязанного белка, такого как ЕрсАМ. Также подразумевается, что усеченные версии ВСМА могут включать домен сигнального пептида в N-конце, например, сигнальный пептид, полученный из сигнального пептида тяжелой цепи мышинового IgG. Дополнительно подразумевается, что усеченные версии ВСМА могут включать домен v5 в N-конце (после сигнального пептида), который позволяет подтвердить их правильную экспрессию на клеточной поверхности. Ожидается, что снижение или прекращение связывания будет наблюдаться для тех усеченных версий ВСМА, которые больше не включают область ВСМА, распознаваемую связывающим доменом. Снижение связывания предпочтительно составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60%, 70%, 80%, и наиболее предпочтительно 90%, 95% или даже 100%, причем связывание с полным человеческим белком ВСМА (или его внеклеточной областью или доменом) устанавливается как 100.

[67] Дополнительным способом определения вклада конкретного остатка ВСМА в распознавание конструкцией антитела или связывающим доменом является аланин-сканирующий мутагенез (смотрите, например, Morrison KL & Weiss GA. *Cur Opin Chem Biol.* 2001 Jun;5(3):302-7), в котором каждый предназначенный для анализа остаток замещают аланином, например, посредством сайт-направленного мутагенеза. Аланин используют из-за его необъемной, химически инертной, метильной функциональной группы, которая при этом имитирует вторичную структуру, которой обладают многие другие аминокислоты. Иногда можно использовать объемные аминокислоты, такие как валин или изолейцин, в случаях, когда необходимо сохранение размера мутированного остатка. Аланиновое сканирование является проверенной технологией, которую используют уже долгое время.

[68] Взаимодействие между связывающим доменом и эпитопом или областью, содержащей эпитоп, означает, что связывающий домен демонстрирует приемлемую аффинность в отношении эпитопа/области,

содержащей эпитоп, в конкретном белке или антигене (в данном случае: ВСМА и CD3 соответственно) и, в целом, не демонстрирует существенной реактивности с белками или антигенами, отличными от ВСМА или CD3. «Приемлемая аффинность» включает связывание с аффинностью около 10^{-6} М (КД) или выше. Предпочтительно связывание считается специфическим, когда аффинность связывания составляет от около 10^{-12} до 10^{-8} М, от 10^{-12} до 10^{-9} М, от 10^{-12} до 10^{-10} М, от 10^{-11} до 10^{-8} М, предпочтительно от около 10^{-11} до 10^{-9} М. Вступает ли специфически связывающий домен в реакцию или связывается ли с мишенью, можно легко проверить, помимо прочего, сравнивая реакцию указанного связывающего домена с целевым белком или антигеном с реакцией указанного связывающего домена с белками или антигенами, отличными от ВСМА или CD3. Предпочтительно связывающий домен согласно изобретению практически или по существу не связывается с белками или антигенами, отличными от ВСМА или CD3 (т. е. первый связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от ВСМА, а второй связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от CD3). Подразумеваемой характеристикой конструкций антител в соответствии с настоящим изобретением является то, что они имеют превосходящие характеристики аффинности по сравнению с другими HLE-форматами. Следовательно, такая превосходящая аффинность предполагает продленное время полужизни *in vivo*. Большее время полужизни конструкций антител в соответствии с настоящим изобретением может снизить длительность и частоту введения, что, как правило, влияет на улучшение соблюдения пациентом режима лечения. Это является исключительно важным, так как конструкции антител согласно данному изобретению являются исключительно полезными для сильно ослабленных или даже полиморбидных раковых пациентов.

[69] Термин «практически/по существу не связывает» или «не способен связываться» означает, что связывающий домен согласно данному изобретению не связывает белок или антиген, отличный от ВСМА или CD3, т. е. не демонстрирует реактивность более 30%, предпочтительно не более 20%, предпочтительнее не более 10%, в частности, предпочтительно не более 9%, 8%, 7%, 6% или 5% с

белками или антигенами, отличными от ВСМА или CD3, причем связывание с ВСМА или CD3 соответственно установлено как 100%.

[70] Считается, что на специфическое связывание влияют конкретные мотивы в аминокислотной последовательности связывающего домена и антигена. Таким образом, связывание достигается в результате их первичной, вторичной и/или третичной структуры, а также в результате вторичных модификаций указанных структур. Специфическое взаимодействие участка взаимодействия с антигеном с его специфическим антигеном может приводить к простому связыванию указанного участка с антигеном. Более того, специфическое взаимодействие участка взаимодействия с антигеном с его специфическим антигеном может в альтернативном или дополнительном варианте приводить к инициации сигнала, например, вследствие индукции изменения конформации антигена, олигомеризации антигена и т. д.

[71] Термин «вариабельный» относится к частям доменов антитела или иммуноглобулина, которые демонстрируют вариабельность в последовательности и которые вовлечены в определение специфичности и аффинности связывания конкретного антитела (т. е. «вариабельный (е) домен (ы)»). Спаривание вместе вариабельной тяжелой цепи (VH) и вариабельной легкой цепи (VL) приводит к образованию одного антигенсвязывающего участка.

[72] Вариабельность неравномерно распределена между вариабельными доменами антител; она сконцентрирована в субдоменах каждой из вариабельных областей тяжелой и легкой цепи. Эти субдомены называются «гипервариабельными областями» или «определяющими комплементарность областями» (CDR). Более консервативные (т. е. не гипервариабельные) части вариабельных доменов называются «каркасными» областями (FRM или FR) и обеспечивают каркас для шести CDR в трехмерном пространстве с образованием антигенсвязывающей поверхности. Каждый из вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей природного происхождения содержит четыре FRM-области (FR1, FR2, FR3 и FR4), принимающие большей частью β -складчатую конфигурацию, соединенные тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли,

соединяющие, и в некоторых случаях образующие часть β -складчатой структуры. Гипервариабельные области в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости FRM и вместе с гипервариабельными областями из другой цепи вносят свой вклад в образование антигенсвязывающего участка (смотрите Kabat *et al.*, *loc. cit.*).

[73] Термины «CDR» и множественная форма «CDR» относятся к определяющим комплементарность областям, из которых три обуславливают характер связывания вариабельной области легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) и три обуславливают характер связывания вариабельной области тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3). CDR содержат большинство остатков, отвечающих за специфическое взаимодействие антитела с антигеном и, следовательно, вносят свой вклад в функциональную активность молекулы антитела: они являются основными детерминантами специфичности к антигену.

[74] Точное определение границ и размеров CDR является предметом разных классификаций и систем нумерации. Следовательно, CDR могут быть обозначены в соответствии с определениями Kabat, Chothia, контактными или любыми другими определениями границ, включая описанную в данном документе систему нумерации. Несмотря на отличающиеся границы каждая из этих систем имеет некоторую степень перекрытия в том, что составляет так называемые «гипервариабельные области» в пределах вариабельных последовательностей. Следовательно, определения CDR в соответствии с этими системами могут отличаться по длине и граничным участкам по отношению к прилегающей каркасной области. Смотрите, например, Kabat (подход на основании межвидовой вариабельности последовательностей), Chothia (подход на основании кристаллографических исследований комплексов антиген-антитело), и/или MacCallum (Kabat *et al.*, *loc. cit.*; Chothia *et al.*, J. Mol. Biol, 1987, 196: 901-917; и MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol, 1996, 262: 732). Еще одним стандартом для характеристики антигенсвязывающего участка является определение AbM, применяемое в программном обеспечении для моделирования

антител Oxford Molecular's AbM. Смотрите, например, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. В: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). В случае если две методики идентификации остатков определяют остатки перекрывающихся, но не идентичных областей, их можно комбинировать для определения гибридной CDR. При этом предпочтительной является нумерация в соответствии с так называемой системой Kabat.

[75] Как правило, CDR образуют петлевую структуру, которая может быть классифицирована как каноническая структура. Термин «каноническая структура» относится к основной конформации цепи, которую принимают антигенсвязывающие (CDR) петли. По результатам сравнительных структурных исследований было обнаружено, что пять из шести антигенсвязывающих петель имеют только ограниченный набор доступных конформаций. Каждую каноническую структуру можно охарактеризовать по углу кручения полипептидного скелета. Следовательно, соответствующие петли среди антител могут иметь очень сходные трехмерные структуры, несмотря на высокую аминокислотную вариабельность в большинстве частей петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800). Кроме того, существует взаимосвязь между принимаемой петлей структурой и окружающими ее аминокислотными последовательностями. Конформация конкретного канонического класса определяется длиной петли и аминокислотными остатками, находящимися в ключевых позициях в пределах петель, а также в пределах консервативной каркасной области (т. е. за пределами петли). Отнесение к конкретному каноническому классу, следовательно, можно проводить на основании присутствия этих ключевых аминокислотных остатков.

[76] Термин «каноническая структура» также может включать факторы, связанные с линейной последовательностью антитела, например, каталогизированные Kabat (Kabat et al., loc. cit.). Схема (система) нумерации Kabat является широко распространенным стандартом нумерации аминокислотных остатков варибельного домена антитела последовательным образом и является

предпочтительной схемой, применяемой в данном изобретении, что также упоминается в другом месте данного документа. Для определения канонической структуры антитела также можно использовать дополнительные структурные факторы. Например, те отличия, которые не полностью отображены в нумерации Kabat, можно описать с помощью системы нумерации Chothia *et al.* и/или выявить с помощью других методик, например, кристаллографии и двух- или трехмерного компьютерного моделирования. Соответственно, заданную последовательность антитела можно отнести к каноническому классу, что позволяет, помимо прочего, идентифицировать соответствующие шасси-последовательности (например, на основании необходимости включать разнообразные канонические структуры в библиотеку). Нумерация аминокислотных последовательностей антител по Kabat и структурные факторы, описанные Chothia *et al.*, *loc. cit.*, и их значения для конструирования канонических аспектов структуры антитела описаны в литературе. Субъединичные структуры и трехмерные конфигурации разных классов иммуноглобулинов хорошо известны в данной области техники. Обзор структуры антител можно посмотреть в *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow *et al.*, 1988.

[77] CDR3 легкой цепи и в особенности CDR3 тяжелой цепи могут составлять наиболее важные детерминанты в связывании антигена в пределах вариабельных областей легкой и тяжелой цепи. В некоторых конструкциях антител CDR3 тяжелой цепи составляет основную площадь контакта между антигеном и антителом. *In vitro* схемы отбора, в которых варьируется только CDR3, можно использовать, чтобы варьировать связывающие свойства антитела или чтобы определить, какие остатки вносят вклад в связывание антигена. Следовательно, CDR3, как правило, является наибольшим источником молекулярного разнообразия в пределах связывающего участка антитела. Например, H3 может иметь длину всего в два аминокислотных остатка или более 26 аминокислот.

[78] В классическом полноразмерном антителе или иммуноглобулине каждая легкая (L) цепь связана с тяжелой (H) одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H-цепи

связаны друг с другом одной или более дисульфидными связями в зависимости от изотипа Н-цепи. Домен СН, расположенный наиболее близко к VН, обычно обозначается как СН1. Константные («С») домены непосредственно не вовлечены в связывание антигена, но проявляют различные эффекторные функции, такие как антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность и активация комплемента. Fc-область антитела находится в пределах константных доменов тяжелой цепи и, например, способна взаимодействовать с расположенными на поверхности клетки Fc-рецепторами.

[79] Последовательность генов антитела после сборки и соматической мутации сильно варьируется и по оценкам эти варьированные гены кодируют 10^{10} разных молекул антител (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995). Соответственно, иммунная система обеспечивает некоторый репертуар иммуноглобулинов. Термин «репертуар» относится к по меньшей мере одной нуклеотидной последовательности, целиком или частично полученной из по меньшей мере одной последовательности, кодирующей по меньшей мере один иммуноглобулин. Последовательность (и) можно получать путем перестройки *in vivo* V, D и J сегментов тяжелых цепей и V и J сегментов легких цепей. В альтернативном варианте последовательность (и) можно получать из клетки в ответ на которую происходит перестройка, например, *in vitro* стимуляция. В альтернативном варианте часть или всю (все) последовательность (и) можно получать посредством сплайсинга ДНК, синтеза нуклеотидов, мутагенеза и других способов, смотрите, например, патент США 5565332. Репертуар может включать только одну последовательность или может включать множество последовательностей, включая находящиеся в генетически разнообразной коллекции.

[80] В связи с этим изобретением термин «Fc-часть» или «Fc-мономер» означает полипептид, содержащий по меньшей мере один домен, имеющий функцию домена СН2, и по меньшей мере один домен, имеющий функцию домена СН3 молекулы иммуноглобулина. Как очевидно из термина «Fc-мономер», полипептид, содержащий эти

домены СН, является «полипептидным мономером». Fc-мономер может представлять собой полипептид, содержащий по меньшей мере фрагмент константной области иммуноглобулина за исключением первого домена константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (СН1), но сохраняющий по меньшей мере функциональную часть одного домена СН2 и функциональную часть одного домена СН3, причем домен СН2 является аминоконцевым по отношению к домену СН3. В предпочтительном аспекте этого определения Fc-мономер может представлять собой полипептидную константную область, содержащую часть шарнирной области Ig-Fc, область СН2 и область СН3, причем шарнирная область является аминоконцевой по отношению к домену СН2. Подразумевается, что шарнирная область согласно данному изобретению стимулирует димеризацию. Такие молекулы Fc-полипептидов можно получать, например и без ограничения, путем расщепления папаином области иммуноглобулина (конечно, приводящего к получению димера из двух Fc-полипептидов). В другом аспекте этого определения Fc-мономер может представлять собой полипептидную область, содержащую часть области СН2 и области СН3. Такие молекулы Fc-полипептидов можно получать, например и без ограничения, путем расщепления пепсином молекулы иммуноглобулина. В одном варианте реализации изобретения полипептидная последовательность Fc-мономера по существу аналогична последовательности Fc-полипептида: Fc-области IgG₁, Fc-области IgG₂, Fc-области IgG₃, Fc-области IgG₄, Fc-области IgM, Fc-области IgA, Fc-области IgD и Fc-области IgE. (Смотрите, например, Padlan, *Molecular Immunology*, 31(3), 169-217 (1993)). Вследствие наличия некоторой вариации между иммуноглобулинами и исключительно для ясности Fc-мономер относится к последним двум доменам константной области тяжелой цепи иммуноглобулина IgA, IgD и IgG и последним трем доменам константной области тяжелой цепи иммуноглобулина IgE и IgM. Как упоминалось, Fc-мономер также может содержать гибкую шарнирную область, расположенную N-терминально к этим доменам. В случае IgA и IgM Fc-мономер может содержать J-цепь. В случае IgG Fc-часть содержит домены иммуноглобулина СН2 и СН3 и шарнирную область между первыми двумя доменами и СН2. Хотя границы Fc-

части могут варьироваться, пример Fc-части тяжелой цепи человеческого IgG, содержащей функциональную шарнирную область, домен CH2 и CH3, может, например, по определению содержать остатки от D231 (шарнирного домена – соответствующего D234 в Таблице 1, ниже) до P476 соответственно L476 (в случае IgG4) карбокси-конца домена CH3, где нумерация приведена в соответствии с Kabat. Две Fc-части или два Fc-мономера, слитые друг с другом посредством пептидного линкера, определяют третий домен конструкции антитела согласно изобретению, который также может быть определен как домен scFc.

[81] В одном варианте реализации изобретения подразумевается, что описанный в данном документе домен scFc, соответственно Fc-мономеры, слитые друг с другом, находятся только в третьем домене конструкции антитела.

В соответствии с настоящим изобретением шарнирную область IgG можно определить по аналогии, используя нумерацию Kabat, как показано в Таблице 1. В соответствии с вышесказанным подразумевается, что шарнирный домен/шарнирная область согласно данному изобретению содержит аминокислотные остатки, соответствующие участку последовательности IgG₁ от D234 до P243 в соответствии с нумерацией Kabat. Аналогично, подразумевается, что шарнирный домен/шарнирная область согласно данному изобретению содержит или состоит из шарнирной последовательности IgG₁ DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 99) (соответствующей участку от D234 до P243, как показано в Таблице 1, ниже, – также подразумеваются вариации указанной последовательности, при условии, что шарнирная область продолжает стимулировать димеризацию). В предпочтительном варианте реализации изобретения участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat доменов CH2 в третьем домене конструкции антитела удален посредством замены N314X, где X представляет собой любую аминокислоту за исключением Q. Указанная замена предпочтительно представляет собой замену N314G. В более предпочтительном варианте реализации изобретения указанный домен CH2 дополнительно содержит следующие замены (позиции в соответствии с Kabat): V321C и R309C (эти замены вносят внутримолекулярный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях

309 и 321 по Kabat).

[82] Также подразумевается, что третий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит или состоит из, в порядке от amino-конца к карбокси-концу: DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 99) (т. е. шарнирная область) -CH₂-CH₃-линкер- DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 99) (т. е. шарнирная область) -CH₂-CH₃. Пептидный линкер в вышеуказанной конструкции антитела в предпочтительном варианте реализации характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т. е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т. е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число, равное 5 или более (например, 5, 6, 7, 8 и т. д. или более), причем предпочтительным вариантом является 6 ((Gly₄Ser)₆). Указанная конструкция может дополнительно содержать вышеуказанные замены N314X, предпочтительно N314G, и/или дополнительные замены V321C и R309C. В предпочтительном варианте реализации конструкций антител согласно изобретению, определенных ранее, подразумевается, что второй домен связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или *Macaca*.

Таблица 1: Нумерация аминокислотных остатков шарнирной области по Kabat

Нумерация IMGT для шарнирной области	Аминокислотная трансляция IgG ₁	Нумерация Kabat
1	(E)	226
2	P	227
3	K	228
4	S	232
5	C	233
6	D	234
7	K	235
8	T	236
9	H	237
10	T	238
11	C	239
12	P	240
13	P	241
14	C	242
15	P	243

В дополнительных вариантах реализации данного изобретения шарнирный домен/шарнирная область содержит или состоит из шарнирной последовательности подтипа IgG2 ERKCCVECPSP (SEQ ID NO: 100), последовательности подтипа IgG3 ELKTPLDTHTCPRCP (SEQ ID NO: 101) или ELKTPLGDTTHTCPRCP (SEQ ID NO: 103) и/или последовательности подтипа IgG4 ESKYGPPCPSP (SEQ ID NO: 102). Шарнирная последовательность подтипа IgG1 может быть следующей: EPKSCDKTHTCPPSP (как показано в Таблице 1 и SEQ ID NO: 104). Таким образом, эти основные шарнирные области также подразумеваются в контексте данного изобретения.

[83] Положение и последовательность домена CH2 IgG и домена CH3 IgG можно определить по аналогии, используя нумерацию Kabat, как показано в Таблице 2:

Таблица 2: Нумерация аминокислотных остатков области CH2 и CH3 IgG по Kabat

Подтип IgG	ак трансляция CH2	Нумерация CH2 по Kabat	ак трансляция CH3	Нумерация CH3 по Kabat
IgG ₁	APЕ... ...КАК	244... ...360	GQP.....PGK	361... ...478
IgG ₂	APP... ...КТК	244... ...360	GQP.....PGK	361... ...478
IgG ₃	APЕ... ...КТК	244... ...360	GQP.....PGK	361... ...478
IgG ₄	APЕ... ...КАК	244... ...360	GQP.....LGK	361... ...478

[84] В одном варианте реализации изобретения выделенные жирным аминокислотные остатки в домене CH3 первого или обоих Fc-мономеров удалены.

[85] Пептидный линкер, посредством которого полипептидные мономеры («Fc-часть» или «Fc-мономер») третьего домена слиты друг с другом, предпочтительно содержит по меньшей мере 25 аминокислотных остатков (25, 26, 27, 28, 29, 30 и т. д.). Более предпочтительно этот пептидный линкер содержит по меньшей мере 30 аминокислотных остатков (30, 31, 32, 33, 34, 35 и т. д.). Также предпочтительно, чтобы линкер содержал до 40 аминокислотных остатков, более предпочтительно до 35 аминокислотных остатков, наиболее предпочтительно точно 30 аминокислотных остатков. В предпочтительном варианте реализации такой пептидный линкер характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т. е. Gly₄Ser (SEQ ID

NO: 1), или ее полимерами, т. е. $(\text{Gly}_4\text{Ser})_x$, где x представляет собой целое число, равное 5 или более (например, 6, 7 или 8). Предпочтительно целое число равно 6 или 7, более предпочтительно целое число равно 6.

[86] В случае, если линкер используется для слияния первого домена со вторым доменом или первого или второго домена с третьим доменом, этот линкер предпочтительно имеет длину и последовательность, достаточную, чтобы гарантировать, что каждый из первого и второго доменов может независимо от другого сохранять свою специфичность дифференциального связывания. В случае пептидных линкеров, которые соединяют по меньшей мере два связывающих домена (или два переменных домена) в конструкции антитела согласно изобретению, предпочтительными являются пептидные линкеры, которые содержат всего несколько аминокислотных остатков, например, 12 аминокислотных остатков. Таким образом, предпочтительными являются пептидные линкеры из 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 или 5 аминокислотных остатков. Подразумеваемый пептидный линкер с менее чем 5 аминокислотами содержит 4, 3, 2 или одну аминокислоту, причем предпочтительными являются Gly-богатые линкеры. Предпочтительный вариант реализации пептидного линкера для слияния первого и второго домена приведен в SEQ ID NO:1. Предпочтительный вариант реализации пептидного линкера для слияния второго и третьего домена представляет собой $(\text{Gly})_4$ -линкер, также называемый G4-линкером.

[87] В особенности предпочтительной «единственной» аминокислотой в контексте вышеописанного «пептидного линкера» является Gly. Соответственно, указанный пептидный линкер может состоять из единственной аминокислоты Gly. В предпочтительном варианте реализации изобретения пептидный линкер характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т. е. Gly_4Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т. е. $(\text{Gly}_4\text{Ser})_x$, где x представляет собой целое число, равное 1 или более (например, 2 или 3). Предпочтительные линкеры приведены в SEQ ID NO: от 1 до 12. Характеристики указанного пептидного линкера, которые включают отсутствие стимуляции образования вторичных структур,

известны в данной области техники и описаны, *например*, в Dall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) и Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Предпочтительными являются пептидные линкеры, которые, помимо прочего, не стимулируют образование каких-либо вторичных структур. Связь указанных доменов друг с другом можно обеспечить, *например*, посредством генетической инженерии, как описано в примерах. Способы получения слитых и функционально связанных биспецифических одноцепочечных конструкций и их экспрессии в клетках млекопитающих или бактериях хорошо известны в данной области техники (*например*, WO 99/54440 или Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

[88] В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно данному изобретению первый и второй домен образуют конструкцию антитела в формате, выбранном из группы, состоящей из $(scFv)_2$, scFv-однодоменного mAb, диатела и олигомеров любого из этих форматов.

[89] В соответствии с особенно предпочтительным вариантом реализации изобретения и как описано в прилагающихся примерах, первый и второй домены конструкции антитела согласно изобретению представляют собой «биспецифическую одноцепочечную конструкцию антитела», более предпочтительно биспецифический «одноцепочечный Fv» (scFv). Хотя два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются отдельными генами, их можно соединить, используя рекомбинантные способы, синтетическим линкером, -как было ранее описано в данном документе - который обеспечивает возможность их получения в виде одной белковой цепи, в которой области VL и VH спарены с образованием моновалентной молекулы; смотрите, *например*, Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). Эти фрагменты антител получают, используя традиционные методики, известные специалистам в данной области техники, и оценивают фрагменты в отношении функции таким же образом, что и полноразмерные антитела. Следовательно, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) представляет собой слитый белок

вариабельной области тяжелой цепи (VH) и легкой цепи (VL) иммуноглобулинов, обычно соединенных коротким линкерным пептидом длиной от около десяти до около 25 аминокислот, предпочтительно от около 15 до 20 аминокислот. Обычно линкер насыщен глицином для гибкости, а также серином или треонином для растворимости и может соединять N-конец VH с C-концом VL, или наоборот. Этот белок сохраняет специфичность оригинального иммуноглобулина, несмотря на удаление константных областей и внесение линкера.

[90] Биспецифические одноцепочечные конструкции антител известны в данной области техники и описаны в WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Помимо прочего, патент США 4946778, Kontermann and Dübel (2010), *loc. cit.* и Little (2009), *loc. cit.*) можно адаптировать для получения одноцепочечных конструкций антител, специфически распознающих выбранную (ые) мишень (и).

[91] Бивалентные (также называемые дивалентными) или биспецифические одноцепочечные вариабельные фрагменты (bi-scFv или di-scFv, имеющие формат (scFv)₂ можно сконструировать путем связывания двух молекул scFv (например, линкерами, как было описано ранее). Если эти две молекулы scFv имеют одинаковую специфичность связывания, получаемая в результате молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться бивалентной (т. е. она имеет две валентности в отношении одного эпитопа-мишени). Если две молекулы scFv имеют разную специфичность связывания, получаемая в результате молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться биспецифической. Связывание можно осуществлять путем получения одной пептидной цепи с двумя областями VH и двумя областями VL, что приводит к получению tandemных scFv (смотрите, например, Kufer P. et al., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244). Другой возможностью является создание молекул scFv с линкерными пептидами, которые являются слишком короткими

для того, чтобы удерживать вместе две переменные области (например, около пяти аминокислот), что принуждает scFv к димеризации. Этот тип известен как диатела (смотрите, например, Hollinger, Philipp *et al.*, (July 1993) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (14): 6444-8).

[92] В соответствии с этим изобретением любой из первого, второго или первый и второй домены могут составлять однодоменное антитело, соответственно переменный домен или по меньшей мере часть CDR однодоменного антитела. Однодоменные антитела содержат только один (мономерный) переменный домен антитела, который способен избирательно связываться с конкретным антигеном, независимо от других V-областей или доменов. Первые однодоменные антитела были сконструированы из содержащих только тяжелые цепи антител, обнаруживаемых у верблюжьих, и называются V_HN-фрагментами. Хрящевые рыбы также имеют содержащие только тяжелые цепи антитела (IgNAR), из которых можно получать однодоменные антитела, называемые V_{NAR}-фрагментами. Альтернативный подход состоит в разбитии димерных переменных доменов из обычных иммуноглобулинов, например, принадлежащих человеку или грызуну, на мономеры, получая, таким образом, V_H или V_L в виде однодоменного Ab. Хотя на данный момент большинство исследований относительно однодоменных антител базируются на переменных доменах тяжелой цепи, также было показано, что нанотела, полученные из легких цепей, специфически связываются с эпитопами-мишенями. Примеры однодоменных антител называются sdAb, нанотелами или антителами, содержащими один переменный домен.

[93] Следовательно, однодоменное (mAb)₂ представляет собой моноклональную конструкцию антитела, состоящую из (по меньшей мере) двух однодоменных моноклональных антител, которые по отдельности выбраны из группы, включающей V_H, V_L, V_HN и V_{NAR}. Линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера. Аналогично, «scFv-однодоменное mAb» представляет собой моноклональную конструкцию антитела, состоящую из по меньшей мере одного описанного выше однодоменного антитела и одной

описанной выше молекулы scFv. Снова, линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера.

[94] Конкурирует ли конструкция антитела за связывание с другой заданной конструкцией антитела, можно определить в конкурентном анализе, таком как конкурентный ИФА или клеточный конкурентный анализ. Также можно использовать покрытые авидином микрочастицы (гранулы). Аналогично с покрытием авидином планшета ИФА, при проведении реакции с биотинилированным белком каждую из этих гранул можно использовать в качестве субстрата для проведения анализа. Антиген наносят на гранулу, а затем предварительно наносят первое антитело. Добавляют второе антитело и определяют наличие какого-либо дополнительного связывания. Возможные средства для регистрации данных включают проточную цитометрию.

[95] Т-клетки или Т-лимфоциты являются типом лимфоцитов (которые сами по себе являются типом белых кровяных телец), который играет основную роль в клеточноопосредованном иммунитете. Существует несколько подгрупп Т-клеток, каждая из которых имеет отличную функцию. Т-клетки можно отличить от других лимфоцитов, таких как В-клетки и NK-клетки, по присутствию Т-клеточного рецептора (ТКР) на клеточной поверхности. ТКР отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), и состоит из двух разных белковых цепей. В 95% Т-клеток ТКР состоит из альфа (α) и бета (β) цепи. Когда ТКР вступает в контакт с антигенным пептидом и ГКГС (комплексом пептид/ГКГС), происходит активация Т-лимфоцита посредством серии биохимических событий, опосредованных ассоциированными ферментами, ко-рецепторами, специализированными адапторными молекулами и активированными или высвобожденными транскрипционными факторами.

[96] Комплекс CD3-рецептора представляет собой белковый комплекс и состоит из четырех цепей. У млекопитающих комплекс содержит CD3 γ (гамма) цепь, CD3 δ (дельта) цепь и две CD3 ϵ (эпсилон) цепи. Эти цепи связываются с Т-клеточным рецептором (ТРК) и так называемой ζ (дзета) цепью с образованием комплекса

Т-клеточного рецептора и CD3 и генерацией сигнала активации в Т-лимфоцитах. Цепи CD3 γ (гамма), CD3 δ (дельта) и CD3 ϵ (эпсилон) являются высокородственными белками клеточной поверхности суперсемейства иммуноглобулинов, содержащие один внеклеточный домен иммуноглобулина. Внутриклеточные хвосты молекул CD3 содержат один консервативный мотив, известный как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив или, сокращенно, ITAM, который является важным для сигнальных возможностей ТРК. Молекула CD3 эпсилон представляет собой полипептид, который у людей кодируется геном *CD3E*, который находится в хромосоме 11. Наиболее предпочтительный эпитоп CD3 эпсилон находится в пределах аминокислотных остатков 1-27 внеклеточного домена человеческого CD3 эпсилон. Предполагается, что конструкции антител в соответствии с настоящим изобретением, как правило и преимущественно, меньше демонстрируют неспецифическую активацию Т-клеток, которая является нежелательной в специфической иммунотерапии. Это приводит к снижению риска возникновения побочных явлений.

[97] Перенаправленный лизис клеток-мишеней посредством привлечения Т-клеток мультиспецифической, по меньшей мере биспецифической конструкцией антитела включает образование цитолитического синапса и доставку перфорина и гранзимов. Привлеченные Т-клетки способны серийно осуществлять лизис клеток-мишеней и на них не влияют механизмы уклонения от иммунологического надзора, создающие помехи для процессинга и презентации пептидных антигенов или клональной дифференцировки Т-клеток; смотрите, например, WO 2007/042261.

[98] Цитотоксичность, опосредованную конструкциями антител согласно изобретению, можно определять различными путями. Эффекторные клетки могут представлять собой, например, обогащенные (человеческие) CD8-положительные Т-клетки или нестимулированные (человеческие) мононуклеарные клетки периферической крови (МПК). Если клетки-мишени происходят от или экспрессируются у макаков или трансфицированы ВСМА макака, который связывается первым доменом, эффекторные клетки также

должны происходить от макака, например, линии Т-клеток макака, например, 4119LnPx. Клетки-мишени должны экспрессировать (по меньшей мере внеклеточный домен) ВСМА, например, ВСМА человека или макака. Клетки-мишени могут представлять собой линию клеток (такую как СНО), стабильно или временно трансфицированную ВСМА, например, ВСМА человека или макака. В альтернативном варианте клетки-мишени могут представлять собой ВСМА-положительную линию клеток с естественной экспрессией, такую как линия клеток человеческой множественной миеломы L363 или NCI-H929. Обычно ожидается, что значения EC_{50} будут ниже в случае линий клеток-мишеней, экспрессирующих более высокие уровни ВСМА на клеточной поверхности. Соотношение между эффекторными клетками и клетками-мишенями (Э:М) обычно составляет около 10:1, но также может варьироваться. Цитотоксическую активность биспецифических конструкций антител к ВСМАхCD3 можно определить в анализе высвобождения ^{51}Cr (время инкубации – около 18 часов) или в анализе цитотоксичности на основе FACS (время инкубации – около 48 часов). Также возможны модификации времени инкубации (цитотоксической реакции) в анализе. Другие способы определения цитотоксичности хорошо известны специалистам и включают МТТ- или МТС-анализ, методы анализа на основе АТФ, включая биолюминесцентный анализ, анализ с сульфородамино В (SRB), анализ WST, клоногенный анализ и технологию ECIS.

[99] Цитотоксическую активность, опосредованную биспецифическими конструкциями антител к ВСМАхCD3 согласно данному изобретению, предпочтительно определяют в клеточном анализе цитотоксичности. Ее также можно определять в анализе высвобождения ^{51}Cr . Ее представляет значение EC_{50} , которое соответствует полумаксимальной эффективной концентрации (концентрации конструкции антитела, которая индуцирует цитотоксический ответ посередине между исходным и максимальным уровнем). Предпочтительно значение EC_{50} биспецифических конструкций антител к ВСМАхCD3 составляет ≤ 5000 пМ или ≤ 4000 пМ, более предпочтительно ≤ 3000 пМ или ≤ 2000 пМ, даже более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, даже более

предпочтительно ≤ 400 пМ или ≤ 300 пМ, даже более предпочтительно ≤ 200 пМ, даже более предпочтительно ≤ 100 пМ, даже более предпочтительно ≤ 50 пМ, даже более предпочтительно ≤ 20 пМ или ≤ 10 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 5 пМ.

[100] Вышеприведенные значения EC_{50} можно определить в разных анализах. Специалисту известно, что можно ожидать, что значение EC_{50} будет ниже, когда в качестве эффекторных клеток используют стимулированные/обогащенные Т-клетки $CD8^+$, по сравнению с нестимулированными МКПК. Кроме того, можно ожидать, что значения EC_{50} будут ниже, когда клетки-мишени экспрессируют большое количество ВСМА по сравнению с низким уровнем экспрессии мишеней. Например, когда в качестве эффекторных клеток используют стимулированные/обогащенные Т-клетки $CD8^+$ (и в качестве клеток-мишеней используют трансфицированные ВСМА клетки, такие как клетки CHO, или ВСМА-положительные человеческие клеточные линии), значение EC_{50} биспецифической конструкции антитела к ВСМАхCD3 предпочтительно составляет ≤ 1000 пМ, более предпочтительно ≤ 500 пМ, даже более предпочтительно ≤ 250 пМ, даже более предпочтительно ≤ 100 пМ, даже более предпочтительно ≤ 50 пМ, даже более предпочтительно ≤ 10 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 5 пМ. Когда в качестве эффекторных клеток используют человеческие МКПК, значение EC_{50} биспецифической конструкции антитела к ВСМАхCD3 предпочтительно составляет ≤ 5000 пМ или ≤ 4000 пМ (в частности, когда клетками-мишенями являются ВСМА-положительные человеческие клеточные линии), более предпочтительно ≤ 2000 пМ (в частности, когда клетками-мишенями являются трансфицированные ВСМА клетки, такие как клетки CHO), более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, даже более предпочтительно ≤ 200 пМ, даже более предпочтительно ≤ 150 пМ, даже более предпочтительно ≤ 100 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 50 пМ или меньше. Когда в качестве эффекторных клеток используют линию Т-клеток макака, такую как LnPx4119, а трансфицированную ВСМА макака линию клеток, таких как клетки CHO, используют в качестве линии клеток-мишеней, значение EC_{50} биспецифической

конструкции антитела к ВСМАхCD3 предпочтительно составляет ≤ 2000 пМ или ≤ 1500 пМ, более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, даже более предпочтительно ≤ 300 пМ или ≤ 250 пМ, даже более предпочтительно ≤ 100 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 50 пМ.

[101] Предпочтительно биспецифические конструкции антител к ВСМАхCD3 согласно данному изобретению не индуцируют/не опосредуют лизис или практически не индуцируют/не опосредуют лизис ВСМА-отрицательных клеток, таких как клетки СНО или клетки HL60, MES-SA или SNU-16. Термин «не индуцирует лизис», «практически не индуцирует лизис», «не опосредует лизис» или «практически не опосредует лизис» означает, что конструкция антитела согласно данному изобретению не индуцирует или не опосредует лизис более чем 30%, предпочтительно не более 20%, предпочтительнее не более 10%, в особенности предпочтительно не более 9%, 8%, 7%, 6% или 5% ВСМА-отрицательных клеток, при этом лизис ВСМА-положительной человеческой клеточной линии установлен как 100%. Это обычно соответствует концентрациям конструкции антитела до 500 нМ. Специалисту известно, как определить клеточный лизис без лишних усилий. Кроме того, в данном описании приведены конкретные инструкции для определения клеточного лизиса.

[102] Разница между цитотоксической активностью мономерной и димерной изоформы отдельных биспецифических конструкций антител к ВСМАхCD3 называется «разностью в активности». Эту разность в активности можно рассчитать, например, как отношение между значениями EC_{50} мономерной и димерной формы молекулы. Разность в активности биспецифических конструкций антител к ВСМАхCD3 согласно данному изобретению предпочтительно составляет ≤ 5 , более предпочтительно ≤ 4 , даже более предпочтительно ≤ 3 , даже более предпочтительно ≤ 2 и наиболее предпочтительно ≤ 1 .

[103] Первый и/или второй (или любой дополнительный) связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению предпочтительно отличается межвидовой специфичностью для представителей приматов их класса млекопитающих. Отличающиеся

межвидовой специфичностью CD3-связывающие домены описаны, например, в WO 2008/119567. В соответствии с одним вариантом реализации изобретения первый и/или второй связывающий домен, помимо связывания с человеческим ВСМА и человеческим CD3 соответственно, также связывается с ВСМА/CD3 приматов, включая (но не ограничиваясь этим) приматов Нового Света (таких как *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*), приматов Старого Света (таких как бабуины и макаки), гиббонов и отличных от человека *homininae*.

[104] В одном варианте реализации конструкции антитела в соответствии с изобретением первый домен связывается с ВСМА человека и дополнительно связывается с ВСМА макака, таким как ВСМА *Macaca fascicularis*, и более предпочтительно с ВСМА макака, экспрессируемым на поверхности клеток макака. Аффинность первого домена в отношении ВСМА, предпочтительно в отношении ВСМА человека, предпочтительно составляет ≤ 100 нМ или ≤ 50 нМ, более предпочтительно ≤ 25 нМ или ≤ 20 нМ, более предпочтительно ≤ 15 нМ или ≤ 10 нМ, даже более предпочтительно ≤ 5 нМ, даже более предпочтительно $\leq 2,5$ нМ или ≤ 2 нМ, даже более предпочтительно ≤ 1 нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,6$ нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,5$ нМ и наиболее предпочтительно $\leq 0,4$ нМ. Аффинность можно определить, например, в анализе BIAcore или в анализе Скэтчарда. Специалистам также хорошо известны другие способы определения аффинности. Аффинность первого домена в отношении ВСМА макака предпочтительно составляет ≤ 15 нМ, более предпочтительно ≤ 10 нМ, даже более предпочтительно ≤ 5 нМ, даже более предпочтительно ≤ 1 нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,5$ нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,1$ нМ и наиболее предпочтительно $\leq 0,05$ нМ или даже $\leq 0,01$ нМ.

[105] Предпочтительно разность в аффинности конструкций антител в соответствии с изобретением в отношении связывания ВСМА макака по сравнению с ВСМА человека [ma ВСМА: hu ВСМА] (определяемая, например, в анализе BIAcore или анализе Скэтчарда) составляет < 100 , предпочтительно < 20 , более предпочтительно < 15 , предпочтительнее < 10 , даже более

предпочтительно <8, более предпочтительно <6 и наиболее предпочтительно <2. Предпочтительные диапазоны разности в аффинности конструкций антител в соответствии с изобретением в отношении связывания ВСМА макака по сравнению с ВСМА человека составляют от 0,1 до 20, более предпочтительно от 0,2 до 10, даже более предпочтительно от 0,3 до 6, даже более предпочтительно от 0,5 до 3 или от 0,5 до 2,5 и наиболее предпочтительно от 0,5 до 2 или от 0,6 до 2.

[106] Второй домен конструкции антитела согласно изобретению связывается с CD3 эпсилон человека и/или CD3 эпсилон *Macaca*. В предпочтительном варианте реализации изобретения второй домен дополнительно связывается с CD3 эпсилон *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*. *Callithrix jacchus* и *Saguinus oedipus* являются приматами нового Света, принадлежащими к семейству *Callitrichidae*, тогда как *Saimiri sciureus* является приматом Нового Света, принадлежащим семейству *Cebidae*.

[107] Для конструкции антитела согласно данному изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3 эпсилон человека и/или *Macaca*, содержал VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

(a) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 27 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 28 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 29 в WO 2008/119567;

(b) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 117 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 118 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 119 в WO 2008/119567; и

(c) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 153 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 154 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 155 в WO 2008/119567.

[108] В дополнительном предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно данному изобретению второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3 эпсилон человека и/или *Macaca*, содержит VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

(a) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 12 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 13 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 14 в WO 2008/119567;

(b) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 30 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 31 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 32 в WO 2008/119567;

(c) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 48 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 49 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 50 в WO 2008/119567;

(d) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 66 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 67 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 68 в WO 2008/119567;

(e) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 84 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 85 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 86 в WO 2008/119567;

(f) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 102 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 103 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 104 в WO 2008/119567;

(g) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 120 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 121 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 122 в WO 2008/119567;

(h) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 138 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 139 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 140 в WO 2008/119567;

(i) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 156 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 157 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 158 в WO 2008/119567; и

(j) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 174 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 175 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 176 в WO 2008/119567.

[109] В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению описанные выше три группы VL CDR комбинируют с описанными выше десятью группами VH CDR в рамках второго связывающего домена для получения (30) групп, каждая из которых содержит CDR-L 1-3 и CDR-H 1-3.

[110] Для конструкции антитела согласно данному изобретению

предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал VL-область, выбранную из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID NO: 17, 21, 35, 39, 53, 57, 71, 75, 89, 93, 107, 111, 125, 129, 143, 147, 161, 165, 179 или 183 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 13.

[111] Также предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал VH-область, выбранную из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 или 181 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 14.

[112] Более предпочтительно конструкция антитела согласно данному изобретению характеризуется вторым доменом, который связывается с CD3, содержащим VL-область и VH-область, выбранные из группы, состоящей из:

(a) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 17 или 21 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 15 или 19 в WO 2008/119567;

(b) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 35 или 39 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 33 или 37 в WO 2008/119567;

(c) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 53 или 57 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 51 или 55 в WO 2008/119567;

(d) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 71 или 75 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 69 или 73 в WO 2008/119567;

(e) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 89 или 93 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 87 или 91 в WO 2008/119567;

(f) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 107 или 111 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 105 или 109 в WO 2008/119567;

(g) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 125 или 129 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 123 или 127 в WO 2008/119567;

(h) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 143 или 147 в WO

2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 141 или 145 в WO 2008/119567;

(i) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 161 или 165 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 159 или 163 в WO 2008/119567; и

(j) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 179 или 183 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 177 или 181 в WO 2008/119567.

[113] Также в связи с конструкцией антитела согласно данному изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал VL-область, приведенную в SEQ ID NO: 13, и VH-область, приведенную в SEQ ID NO: 14.

[114] В соответствии с предпочтительным вариантом конструкции антитела согласно данному изобретению первый и/или второй домен имеют следующий формат: Пары VH-областей и VL-областей имеют формат одноцепочечного антитела (scFv). VH- и VL-области расположены в порядке VH-VL или VL-VH. Предпочтительно, чтобы VH-область была расположена N-терминально по отношению к линкерной последовательности, а VL-область была расположена C-терминально по отношению к линкерной последовательности.

[115] Предпочтительный вариант описанной выше конструкции антитела согласно данному изобретению характеризуется вторым доменом, который связывается с CD3, содержащим аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 15.

[116] Также подразумевается, что первый связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, и VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-3, выбранные из группы, состоящей из: (a) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 48, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 49, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 50, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 45, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 46, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 47; (b) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 66, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO:

67, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 68, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 63, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 64, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 65; и (с) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 84, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 85, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 86, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 81, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 82, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 83.

[117] Дополнительно подразумевается, что первый связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит VH-область и VL-область, выбранные из группы, состоящей из: (а) VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 51, и VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 52; (b) VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 57, и VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 58; (с) VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 69, и VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 70; (d) VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 75, и VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 76; (е) VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 87, и VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 88; и (f) VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 93, и VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 94.

[118] Дополнительно подразумевается, что первый связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID NO: 53, 59, 71, 77, 89 или 95.

[119] Ковалентные модификации конструкций антител также включены в объем этого изобретения и в целом, но не всегда, проводятся после трансляции. Например, несколько типов ковалентных модификаций конструкции антитела вносят в молекулу посредством проведения реакции между конкретными аминокислотными остатками конструкции антитела с органическим дериватизирующим агентом, который способен вступать в реакцию с избранными боковыми цепями N- или C-концевых остатков.

[120] Остатки цистеинила наиболее часто приводят в реакцию с α -галоацетатами (и соответствующими аминами), такими как хлоруксусная кислота или хлорацетамид, чтобы получить карбоксиметильные или карбоксиамидометильные производные.

Остатки цистеинила также дериватизируют путем проведения реакции с бромтрифторацетоном, α -бром- β -(5-имидозоил) пропионовой кислотой, хлорацетилфосфатом, N-алкилмалеимидами, 3-нитро-2-пиридилдисульфидом, метил-2-пиридилдисульфидом, п-хлорртутьбензоатом, 2-хлорртуть-4-нитрофенолом или хлор-7-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом.

[121] Остатки гистидила дериватизируют путем проведения реакции с диэтилпирокарбонатом при pH 5,5-7,0, так как этот агент является относительно специфическим в отношении боковой цепи гистидила. Также используют пара-бромфенацилбромид; реакцию предпочтительно проводят в 0,1 М какодилате натрия при pH 6,0. Остатки лизинила и аминоконцевые остатки приводят в реакцию с янтарным ангидридом или ангидридами других карбоновых кислот. Дериватизация этими агентами приводит к изменению заряда остатков лизинила на противоположный. Другие подходящие агенты для дериватизации альфа-амино-содержащих остатков включают сложные имидоэфиры, такие как пиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборгидрид; тринитробензенсульфоновую кислоту; O-метилизомочевину; 2,4-пентандион; и катализируемую трансаминазой реакцию с глиоксилатом.

[122] Остатки аргинила модифицируют путем проведения реакции с одним из нескольких традиционных реагентов, среди которых фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Для дериватизации остатков аргинина требуется, чтобы реакция проводилась в щелочных условиях из-за высокого значения pKa функциональной группы гуанидина. Кроме того, эти реагенты могут вступать в реакцию с группами лизина, а также эпсилон-амино-группой аргинина.

[123] Можно осуществлять специфическую модификацию остатков тирозила, при этом особенный интерес представляет внесение спектральных меток в остатки тирозила путем проведения реакции с ароматическими соединениями диазония или тетранитрометаном. Наиболее часто используют N-ацетилимидизол и тетранитрометан для получения молекул O-ацетилтирозила и 3-нитро производных соответственно. Остатки тирозила йодируют, используя ^{125}I или

^{131}I , чтобы получить меченые белки для применения в радиоиммуноанализе, при этом подходит описанный выше метод с применением хлорамина Т.

[124] Карбоксильные боковые группы (аспартильные или глутамильные) избирательно модифицируют путем проведения реакции с карбодиимидами ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N--R}'$), где R и R' представляют собой необязательно разные алкильные группы, такие как 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-4-этил) карбодиимид или 1-этил-3-(4-азониа-4,4-диметилпентил) карбодиимид. Кроме того, аспартильные и глутамильные остатки преобразуют в аспарагинильные и глутаминильные остатки путем проведения реакции с ионами аммония.

[125] Дериватизацию бифункциональными агентами используют для перекрестного сшивания конструкций антител согласно данному изобретению с нерастворимой в воде иммобилизирующей матрицей или поверхностью для применения в различных способах. Обычно применяемые перекрестно-сшивающие агенты включают, например, 1,1-бис(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаральдегид, сложные N-гидроксисукцинимидные эфиры, например, сложные эфиры с 4-азидосалициловой кислотой, гомобифункциональные сложные имидоэфиры, включая дисукцинимидиловые сложные эфиры, такие как 3,3'-дитиобис(сукцинимидилпропионат), и бифункциональные малеимиды, такие как бис-N-малеимидо-1,8-октан. Дериватизирующие агенты, такие как метил-3-[(п-азидофенил) дитио]пропиоимидат, позволяют получать фотоактивируемые промежуточные соединения, которые способны образовывать перекрестные связи в присутствии света. В альтернативном варианте для иммобилизации белков применяют реактивные нерастворимые в воде матрицы, такие как активируемые цианогенбромидом углеводы, и реактивные субстраты, описанные в патентах США № 3969287; 3691016; 4195128; 4247642; 4229537; и 4330440.

[126] Остатки глутамила и аспарагина часто деамидируют до соответствующих остатков глутамина и аспарта соответственно. В альтернативном варианте эти остатки деамидируют в умеренных кислых условиях. Любая форма этих остатков попадает в объем этого изобретения.

[127] Другие модификации включают гидроксилирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп остатков серила или треонила, метилирование α -амино-групп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (Т. Е. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

[128] Другой тип ковалентной модификации конструкций антител, включенный в объем этого изобретения, включает изменение профиля гликозилирования белка. Как известно в данной области техники, профили гликозилирования могут зависеть как от последовательности белка (например, наличия или отсутствия конкретных аминокислотных остатков гликозилирования, что обсуждается ниже), так и от клетки-хозяина или организма, в которых вырабатывается белок. Конкретные экспрессионные системы обсуждаются ниже.

[129] Гликозилирование полипептидов, как правило, бывает N-связанным или O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводного компонента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X является любой аминокислотой за исключением пролина, представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводного компонента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, наличие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный участок гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикамнокислоте, наиболее часто серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

[130] Добавление участков гликозилирования в конструкцию антитела удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или более из вышеописанных трипептидных последовательностей (для участков N-связанного гликозилирования). Изменение также можно проводить

путем добавления или замены одним или более остатками серина или треонина в стартовой последовательности (для участков O-связанного гликозилирования). Для удобства аминокислотную последовательность конструкции антитела предпочтительно изменяют посредством изменений на уровне ДНК, в частности, мутируя ДНК, кодирующую полипептид, в предварительно выбранных основаниях, так чтобы создать кодоны, которые будут транслироваться в необходимые аминокислоты.

[131] Другим средством повышения числа углеводных компонентов на конструкции антитела является химическое или ферментативное сопряжение гликозидов с белком. Преимущество этих процедур состоит в том, что для них не требуется выработка белка в клетке-хозяине, в которой существует возможность для N- и O-связанного гликозилирования. В зависимости от применяемого способа сопряжения сахар (a) можно присоединять к (a) аргинину и гистидину, (b) свободным карбоксильным группам, (c) свободным сульфгидрильным группам, таким как в цистеине, (d) свободным гидроксильным группам, таким как в серине, треонине или гидроксипролине, (e) ароматическим остаткам, таким как в фенилаланине, тирозине или триптофана, или (f) амидной группе глутамина. Эти способы описаны в WO 87/05330 и в Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306.

[132] Удаление углеводных компонентов, присутствующих в исходной конструкции антитела, можно осуществлять химическим или ферментативным способом. Для химического дегликозилирования необходимо воздействие на белок соединения трифторметансульфоновой кислоты или эквивалентного соединения. Такая обработка приводит к отщеплению большинства или всех сахаров за исключением связующего сахара (N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина), при этом оставляя полипептид нетронутым. Химическое дегликозилирование описано в Hakimuddin *et al.*, 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 и в Edge *et al.*, 1981, *Anal. Biochem.* 118:131. Ферментативное отщепление углеводных компонентов на полипептидах можно обеспечить путем применения различных эндо- и экzogликозидаз, как описано в Thotakura *et al.*, 1987, *Meth. Enzymol.* 138:350. Гликозилирование

в потенциальных участках гликозилирования можно предотвратить путем применения соединения туникамицина, как описано в Duskin *et al.*, 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. Туникамицин блокирует образование связей белок-N-гликозид.

[133] Другие модификации конструкции антитела также предусмотрены в данном документе. Например, другой тип ковалентной модификации конструкции антитела включает связывание конструкции антитела с различными небелковыми полимерами, включая, но не ограничиваясь этим, различные полиолы, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, полиоксисилкены или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, так, как это описано в патентах США № 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337. Кроме того, как известно в данной области техники, можно проводить аминокислотные замены в различных позициях в конструкции антитела, например, чтобы облегчить добавление полимеров, таких как ПЭГ.

[134] В некоторых вариантах реализации изобретения ковалентная модификация конструкций антител согласно изобретению включает добавление одной или более меток. Метящая группа может быть сопряжена с конструкцией антитела посредством спейсерных ножек различной длины для снижения потенциального стерического несоответствия. В данной области техники известны различные способы мечения белков, которые можно применять при осуществлении данного изобретения. Термин «метка» или «метящая группа» относится к любой выявляемой метке. В общем случае метки делятся на множество классов в зависимости от метода анализа, в котором предполагается их выявление; следующие примеры включают, но не ограничиваются этим:

а) изотопные метки, которые могут представляться собой радиоактивные или тяжелые изотопы, такие как радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I)

б) магнитные метки (например, магнитные частицы)

с) редокс-активные компоненты

д) оптические красители (включая, но не ограничиваясь этим, хромофоры, люминофоры и флуорофоры), такие как флуоресцентные

группы (например, ФИТЦ, родамин, люминофоры на основе комплексов лантанидов), хемилюминесцентные группы и флуорофоры, которые могут представлять собой как «низкомолекулярные» флуорофоры, так и белковые флуорофоры

е) ферментативные группы (например, пероксидазу хрена, β -галактозидазу, люциферазу, щелочную фосфатазу)

f) биотинилированные группы

г) predetermined полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновых молний, участки связывания для вторичных антител, металлсвязывающие домены, эпитопные метки и т. д.)

[135] Под «флуоресцентной меткой» подразумевается любая молекула, которую можно выявить благодаря свойственным ей флуоресцентным свойствам. Подходящие флуоресцентные метки включают, но не ограничиваются этим, флуоресцеин, родамин, тетраметилродамин, эозин, эритрозин, кумарин, метилкумарины, пирен, малахитовый зеленый, стильбен, желтый люцифер, голубой каскад J, Техасский красный, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, зеленый Орегон, красители Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), голубой каскад, желтый каскад и R-фикоэритрин (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), ФИТЦ, родамин и Техасский красный (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Подходящие оптические красители, включая флуорофоры, описаны в *Molecular Probes Handbook* by Richard P. Haugland.

[136] Подходящие белковые флуоресцентные метки также включают, но не ограничиваются этим, зеленый флуоресцентный белок, включая виды ЗФБ Renilla, Ptilosarcus или Aequorea (Chalfie et al., 1994, *Science* 263:802-805), УЗФБ (Clontech Laboratories, Inc., номер доступа Genbank U55762), синий флуоресцентный белок (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3N 1J9; Stauber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471; Heim et al., 1996,

Curr. Biol. 6:178-182), усиленный желтый флуоресцентный белок (УЖФБ, Clontech Laboratories, Inc.), люциферазу (Ichiki *et al.*, 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417), β -галактозидазу (Nolan *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) и Renilla (WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, патенты США № 5292658; 5418155; 5683888; 5741668; 5777079; 5804387; 5874304; 5876995; 5925558).

[137] Конструкция антитела согласно изобретению также может содержать дополнительные домены, которые, *например*, помогают при выделении молекулы или имеют отношение к адаптированному фармакокинетическому профилю молекулы. Домены, которые помогают при выделении конструкции антитела, могут быть выбраны из пептидных мотивов или вторично внесенных компонентов, которые могут быть захвачены в способе выделения, *например*, в колонке для выделения. Неограничивающие варианты реализации таких дополнительных доменов включают пептидные мотивы, известные как Мус-метка, НАТ-метка, НА-метка, ТАР-метка, GST-метка, хитин-связывающий домен (CBD-метка), мальтоза-связывающий белок (МВР-метка), Flag-метка, Strep-метка и ее варианты (*например*, StrepII-метка) и His-метка. Описанные в данном документе конструкции антител могут содержать домен His-метки, который в общем случае известен как повтор последовательных остатков His в аминокислотной последовательности молекулы, предпочтительно из пяти, и более предпочтительно из шести остатков His (гекса-гистидин). His-метка может быть расположена, *например*, в N- или C-конце конструкции антитела, предпочтительно она располагается в C-конце. Наиболее предпочтительно гекса-гистидиновая метка (NNNNN) (SEQ ID NO:16) связана посредством пептидной связи с C-концом конструкции антитела в соответствии с изобретением. Кроме того, с поли-гистидиновой меткой можно комбинировать конъюгатную систему ПЛГК-ПЭГ-ПЛГК для применений с замедленным высвобождением и улучшения фармакокинетического профиля.

[138] Также предполагаются модификации аминокислотных последовательностей описанных в данном документе конструкций антител. *Например*, может требоваться улучшение аффинности

связывания и/или других биологических свойств конструкции антитела. Варианты аминокислотных последовательностей конструкций антител получают, внося соответствующие нуклеотидные изменения в нуклеиновые кислоты конструкций антител, или путем пептидного синтеза. Все описанные ниже модификации аминокислотных последовательностей должны приводить к получению конструкции антитела, которая сохраняет необходимую биологическую активность (связывание с ВСМА и с CD3) немодифицированной родительской молекулы.

[139] Термин «аминокислота» или «аминокислотный остаток», как правило, относится к аминокислоте, имеющей известное в данной области техники определение, такой как аминокислота, выбранная из группы, состоящей из: аланина (Ala или A); аргинина (Arg или R); аспарагина (Asn или N); аспарагиновой кислоты (Asp или D); цистеина (Cys или C); глутамина (Gln или Q); глутаминовой кислоты (Glu или E); глицина (Gly или G); гистидина (His или H); изолейцина (Ile или I); лейцина (Leu или L); лизина (Lys или K); метионина (Met или M); фенилаланина (Phe или F); пролина (Pro или P); серина (Ser или S); треонина (Thr или T); триптофана (Trp или W); тирозина (Tyr или Y); и валина (Val или V), хотя модифицированные, синтетические или редкие аминокислоты можно использовать в случае необходимости. В общем случае аминокислоты можно разделить на группы, имеющие неполярную боковую цепь (например, Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); отрицательно заряженную боковую цепь (например, Asp, Glu); положительно заряженную боковую цепь (например, Arg, His, Lys); или незаряженную полярную боковую цепь (например, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp и Tyr).

[140] Аминокислоты модификации включают, например, делеции из и/или вставки в, и/или замены остатков в пределах аминокислотных последовательностей конструкций антител. Для получения конечной конструкции осуществляют любую комбинацию из делеции, вставки и замены, при условии, что конечная конструкция обладает необходимыми характеристиками. Аминокислотные изменения также могут менять посттрансляционные процессы конструкций антител, такие как изменение числа или позиции участков

гликозилирования.

[141] Например, можно проводить вставку, замену или делецию 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислот в каждой из CDR (конечно, в зависимости от их длины), тогда как в каждой из FR можно проводить вставку, замену или делецию 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот. Предпочтительно вставки аминокислотной последовательности в конструкцию антитела включают амино- и/или карбокси-концевые слияния длиной в диапазоне 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков в полипептидах, содержащих сто или более остатков, а также вставки одного или нескольких аминокислотных остатков внутри последовательности. Соответствующие модификации также можно проводить в пределах третьего домена конструкции антитела согласно изобретению. Инсерционный вариант конструкции антитела согласно изобретению включает слияние фермента с N-концом или с C-концом конструкции антитела или слияние с полипептидом.

[142] Представляющие наибольший интерес для заместительного мутагенеза остатки включают (не ограничиваются этим) CDR тяжелой и/или легкой цепи, в частности, гипервариабельные области, но также предполагаются изменения FR в тяжелой и/или легкой цепи. Замены предпочтительно представляют собой консервативные замены, описанные в данном документе. Предпочтительно можно проводить замену 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот в CDR, тогда как в каркасных областях (FR) можно проводить замену 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот, в зависимости от длины CDR или FR. Например, если последовательность CDR включает в себя 6 аминокислот, подразумевается возможность замены одной, двух или трех из этих аминокислот. Аналогично, если последовательность CDR включает в себя 15 аминокислот, подразумевается возможность замены одной, двух, трех, четырех, пяти или шести из этих аминокислот.

[143] Полезный способ идентификации определенных остатков или областей конструкций антител, которые являются предпочтительными участками для мутагенеза, называется «аланин-сканирующим мутагенезом» и описан в Cunningham and Wells in Science, 244: 1081-1085 (1989). В данном случае определяют

остаток или группу целевых остатков в пределах конструкции антитела (например, заряженных остатков, таких как arg, asp, his, lys и glu) и замещают нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином) для воздействия на взаимодействие аминокислот с эпитопом.

[144] Затем те аминокислотные участки, которые демонстрируют функциональную чувствительность к заменам, корректируют, внося дополнительные или другие варианты в участках замен или для них. Таким образом, хотя участок или область для внесения вариации в аминокислотную последовательность predeterminedены, природа мутации *per se* не должна быть predeterminedенной. Например, чтобы проанализировать или оптимизировать характеристики мутации в данном участке, можно провести аланин-сканирующий или случайный мутагенез в целевом кодоне или участке и провести скрининг экспрессируемых вариантов конструкции антитела в отношении оптимальной комбинации необходимой активности. Методики осуществления заместительных мутаций в predeterminedенных участках в ДНК с известной последовательностью, хорошо известны, например, это мутагенез с праймером M13 и ПЦР-мутагенез. Скрининг мутантов проводят, применяя анализ антигенсвязывающей активности, например, связывания ВСМА или CD3.

[145] В общем случае, если замена аминокислот проведена в одной или более, или во всех CDR тяжелой и/или легкой цепи, предпочтительно, чтобы полученная «замещенная» последовательность была по меньшей мере на 60% или 65%, более предпочтительно на 70% или 75%, даже более предпочтительно на 80% или 85% и в особенности предпочтительно на 90% или 95% идентичной «оригинальной» последовательности CDR. Это означает, что от длины CDR зависит, в какой степени она идентична «замещенной» последовательности. Например, CDR, содержащая 5 аминокислот, предпочтительно является на 80% идентичной своей замещенной последовательности, чтобы по меньшей мере одна аминокислота была заменена. Соответственно, CDR конструкции антитела могут иметь разную степень идентичности со своими

замещенными последовательностями, например, CDRL1 может иметь 80%, тогда как CDRL3 может иметь 90%.

[146] Предпочтительные замены (замещения) представляют собой консервативные замены. При этом подразумевается возможность любой замены (включая неконсервативную замену или одну или более из «типовых замен», перечисленных в Таблице 3, ниже) при условии, что конструкция антитела сохраняет свою способность связываться с ВСМА посредством первого домена и с CD3 эпсилон посредством второго домена, и/или ее CDR имеют идентичность с замещенной последовательностью (по меньшей мере на 60% или 65%, более предпочтительно на 70% или 75%, даже более предпочтительно на 80% или 85% и в особенности предпочтительно на 90% или 95% идентичны «оригинальной» последовательности CDR).

[147] Консервативные замены приведены в Таблице 3 под заглавием «предпочтительные замены». Если такие замены приводят к изменению биологической активности, тогда можно вносить более существенные изменения, обозначенные в Таблице 3 как «типовые замены» или дополнительно описанные ниже с привязкой к классам аминокислот, а продукты исследовать в отношении необходимой характеристики.

Таблица 3: Аминокислотные замены

Оригинал	Типовые замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	Ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	norleucine, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu

Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	Ala	ala
Ser (S)	Thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

[148] Существенные модификации биологических свойств конструкции антитела согласно данному изобретению осуществляют, выбирая замены, которые существенно отличаются по своему действию на поддержание (а) структуры полипептидного скелета в области замены, например, в виде слоя спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом участки или (с) объема боковой цепи. Остатки природного происхождения делятся на группы на основании общих свойств боковых цепей: (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile; (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr, asn, gln; (3) кислые: asp, glu; (4) основные: his, lys, arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и (6) ароматические: trp, tyr, phe.

[149] Неконсервативные замены включают замену представителя одного из этих классов представителем другого класса. Любой остаток цистеина, не принимающий участия в поддержании надлежащей конформации конструкции антитела, можно заменять, в общем случае серином, для улучшения устойчивости молекулы к окислению и предотвращения аберрантного перекрестного связывания. И наоборот, цистеиновую (ые) связь (и) можно добавлять в антитело для улучшения его стабильности (в частности, когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как фрагмент Fv).

[150] В случае аминокислотных последовательностей идентичность и/или сходство последовательностей определяют, используя стандартные методики, известные в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, алгоритм локальной идентичности последовательностей Смита и Уотермана, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, алгоритм выравнивания для определения идентичности последовательностей Нидлмана и Вунша, 1970, *J. Mol.*

Biol. 48:443, метод поиска сходства Пирсона и Липмана, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444, компьютеризованные реализации этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), программу для последовательностей Best Fit, описанную в Devereux *et al.*, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395, предпочтительно с применением установок по умолчанию или по усмотрению. Предпочтительно процент идентичности рассчитывают с помощью FastDB на основании следующих параметров: штраф за несовпадение 1; штраф за гэп 1; штраф за размер гэпа 0,33; и штраф за соединение 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

[151] Примером применимого алгоритма является PILEUP. PILEUP создает множественное выравнивание последовательностей из группы родственных последовательностей, используя прогрессивное, попарное выравнивание. Также она может строить дерево, показывающее группирующие взаимосвязи, используемые для создания выравнивания. В PILEUP используется упрощение метода прогрессивного выравнивания Фенга и Дулиттла, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360; этот метод аналогичен описанному Хиггинсом и Шарпом, 1989, *CABIOS* 5:151-153. Применимые параметры PILEUP включают вес гэпа по умолчанию 3,00, вес продолжения гэпа по умолчанию 0,10, и взвешенные концевые гэпы.

[152] Другим примером применяемого алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в: Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul *et al.*, 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; и Karin *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. В особенности применимой программой BLAST является программа WU-BLAST-2, которая была создана в соответствии с Altschul *et al.*, 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. В WU-BLAST-2 используется несколько поисковых параметров, значения большинства которых заданы по умолчанию. Корректируемые параметры установлены со следующими значениями: длина перекрытия=1, доля перекрытия=0,125, пороговая длина

слова (T) = II. Параметры HSP S и HSP S2 являются динамическими значениями и устанавливаются самой программой в зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, по которой проводится поиск представляющей интерес последовательности; при этом данные значения могут быть скорректированы для повышения чувствительности.

[153] Дополнительным применимым алгоритмом является BLAST с гэпами, описанный в Altschul et al., 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402. В BLAST с гэпами используется матрица оценок замен BLOSUM-62; пороговый параметр T установлен на 9; используется метод двух совпадений для инициации продления без гэпов, приписывается гэпам длиной k стоимость $10+k$; X_u установлен на 16, и X_g установлен на 40 для стадии поиска по базе данных и на 67 для выходной стадии алгоритмов. Выравнивания с гэпами иницируются оценкой, соответствующей около 22 битам.

[154] В общем случае аминокислотная гомология, сходство или идентичность между отдельными вариантными CDR или последовательностями VH/VL составляет по меньшей мере 60% с последовательностями, приведенными в данном документе, и, чаще, с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью, составляющей по меньшей мере 65% или 70%, более предпочтительно по меньшей мере 75% или 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% и почти 100%. Аналогичным образом «процент (%) идентичности нуклеотидных последовательностей» по отношению к нуклеотидной последовательности определенных в данном документе связывающих белков определяется как процентное содержание нуклеотидных остатков в кандидатной последовательности, которые являются идентичными с нуклеотидными остатками в кодирующей последовательности конструкции антитела. В конкретном методе используется модуль BLASTN из WU-BLAST-2 с установленными по умолчанию параметрами, с длиной перекрытия и долей перекрытия установленными на 1 и 0,125 соответственно.

[155] В общем случае гомология, сходство или идентичность нуклеотидных последовательностей между нуклеотидными последовательностями, кодирующими отдельные вариантные CDR или

последовательности VH/VL, и нуклеотидными последовательностями, приведенными в данном документе, составляет по меньшей мере 60% и, чаще, с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью, составляющей по меньшей мере 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% и почти 100%. Таким образом, «вариантная CDR» или «вариантная область VH/VL» представляет собой область с конкретной гомологией, сходством или идентичностью с родительской CDR/VH/VL согласно изобретению и обладает биологической функцией, включая, но не ограничиваясь этим, по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% специфичности и/или активности родительской CDR или VH/VL.

[156] В одном варианте реализации изобретения процент идентичности с человеческой зародышевой линией конструкций антител в соответствии с изобретением составляет $\geq 70\%$ или $\geq 75\%$, более предпочтительно $\geq 80\%$ или $\geq 85\%$, даже более предпочтительно $\geq 90\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 91\%$, $\geq 92\%$, $\geq 93\%$, $\geq 94\%$, $\geq 95\%$ или даже $\geq 96\%$. Считается, что идентичность с генными продуктами человеческого антитела зародышевой линии является важным фактором для снижения риска того, что терапевтические белки будут вызывать иммунный ответ против лекарственного препарата у пациента во время лечения. Hwang & Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods 36 (2005) 3-10) продемонстрировали, что уменьшение нечеловеческих частей лекарственных конструкций антител приводит к снижению риска индукции антител против лекарственного препарата у пациентов во время лечения. При сравнении достаточного количества клинически оцененных лекарственных препаратов на основе антител и соответствующих данных по иммуногенности, была выявлена тенденция, что гуманизация V-областей антител делает белки менее иммуногенными (в среднем для 5,1% пациентов), чем антитела, несущие неизмененные нечеловеческие V-области (в средней для 23,59% пациентов). Следовательно, для белковых терапевтических средств

на основе V-области в форме конструкций антител необходима большая степень идентичности с человеческими последовательностями. С целью определения идентичности зародышевой линии можно проводить выравнивание V-областей VL с аминокислотными последовательностями V-сегментов и J-сегментов человеческой зародышевой линии (<http://vbase.mrc-sre.cam.ac.uk/>), используя программное обеспечение Vector NTI, и рассчитывать аминокислотную последовательность путем деления идентичных аминокислотных остатков на общее число аминокислотных остатков VL в процентах. То же самое можно осуществлять в отношении VH-сегментов (<http://vbase.mrc-sre.cam.ac.uk/>) за исключением того, что VH CDR3 может быть исключена вследствие высокой степени разнообразия и отсутствия партнеров по выравниванию среди VH CDR3 человеческой зародышевой линии. Затем можно применять рекомбинантные технологии для повышения идентичности последовательностей с генами человеческого антитела зародышевой линии.

[157] Дополнительно подразумевается, что биспецифические конструкции антител к ВСМАхCD3 согласно данному изобретению (практически) не связываются или не вступают в перекрестную реакцию с BAFF-R человека и/или TACI человека. Дополнительно подразумевается, что биспецифические конструкции антител к ВСМАхCD3 согласно данному изобретению (практически) не связываются или не вступают в перекрестную реакцию с BAFF-R макака/яванского макака и/или TACI макака/яванского макака.

[158] В дополнительном варианте реализации биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению демонстрируют высокий выход мономеров в стандартных условиях лабораторного масштаба, например, в условиях стандартного двухэтапного процесса очистки. Предпочтительно выход мономеров конструкций антител в соответствии с изобретением составляет $\geq 0,25$ мг/л супернатанта, более предпочтительно $\geq 0,5$ мг/л, даже более предпочтительно ≥ 1 мг/л и наиболее предпочтительно ≥ 3 мг/л супернатанта.

[159] Аналогично, можно определить выход димерных изоформ

конструкций антител и, следовательно, процентное содержание мономеров (т. е. мономер: (мономер+димер)) конструкций антител. Продуктивность мономерных и димерных конструкций антител и рассчитанное процентное содержание мономеров можно, например, получить на этапе ЭХ-очистки культурального супернатанта от стандартизированного производства в лабораторном масштабе в роллерных флаконах. В одном варианте реализации изобретения процентное содержание мономеров конструкций антител составляет $\geq 80\%$, более предпочтительно $\geq 85\%$, даже более предпочтительно $\geq 90\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 95\%$.

[160] В одном варианте реализации изобретения конструкции антитела предпочтительно характеризуются плазменной стабильностью (отношением EC50 с плазмой к EC50 без плазмы), составляющей ≤ 5 или ≤ 4 , более предпочтительно $\leq 3,5$ или ≤ 3 , даже более предпочтительно $\leq 2,5$ или ≤ 2 и наиболее предпочтительно $\leq 1,5$ или ≤ 1 . Плазменную стабильность конструкции антитела можно исследовать, инкубируя конструкцию в человеческой плазме при 37°C в течение 24 часов с последующим определением EC50 в анализе высвобождения ^{51}Cr хрома. Эффекторные клетки в анализе цитотоксичности могут представлять собой стимулированные обогащенные человеческие CD8-положительные Т-клетки. Клетки-мишени могут представлять собой, например, клетки СНО, трансфицированные человеческим ВСМА. Соотношение между эффекторными клетками и клетками-мишенями (Э:М) может быть выбрано как 10:1. Применяемый в этих целях пул человеческой плазмы получают из крови здоровых доноров, собранной в покрытые ЭДТК шприцы. Клеточные компоненты удаляют путем центрифугирования, а верхнюю плазменную фазу собирают и после этого объединяют. В качестве контроля конструкции антител разводят непосредственно перед анализом цитотоксичности в среде RPMI-1640. Плазменную стабильность рассчитывают как отношение EC50 (после инкубации плазмы) к EC50 (контроля).

[161] Также предпочтительно, чтобы преобразование мономеров в димеры конструкций антител было низким. Степень преобразования можно определять в разных условиях и анализировать с помощью высокоэффективной эксклюзионной хроматографии. Например,

инкубацию мономерных изоформ конструкций антител можно проводить в течение 7 суток при 37°C и концентрациях, составляющих, например, 100 мкг/мл или 250 мкг/мл, в инкубаторе. В таких условиях предпочтительно, чтобы конструкции антител согласно изобретению демонстрировали процентное содержание димеров $\leq 5\%$, более предпочтительно $\leq 4\%$, даже более предпочтительно $\leq 3\%$, даже более предпочтительно $\leq 2,5\%$, даже более предпочтительно $\leq 2\%$, даже более предпочтительно $\leq 1,5\%$ и наиболее предпочтительно $\leq 1\%$ или $\leq 0,5\%$ или даже 0%.

[162] Также предпочтительно, чтобы биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению характеризовались низким уровнем преобразования в димеры после некоторого числа циклов замораживания/размораживания. Например, мономер конструкции антитела доводят до концентрации 250 мкг/мл, например, в генерическом буфере готовой формы и подвергают трем циклам замораживания/размораживания (замораживание при -80°C в течение 30 мин с последующим размораживанием в течение 30 мин при комнатной температуре) с последующим проведением высокочувствительной ЭХ для определения процентного содержания изначально мономерной конструкции антитела, которая была преобразована в димерную конструкцию антитела. Предпочтительно процентное содержание димеров биспецифических конструкций антител составляет $\leq 5\%$, более предпочтительно $\leq 4\%$, даже более предпочтительно $\leq 3\%$, даже более предпочтительно $\leq 2,5\%$, даже более предпочтительно $\leq 2\%$, даже более предпочтительно $\leq 1,5\%$ и наиболее предпочтительно $\leq 1\%$ или даже $\leq 0,5\%$, например, после трех циклов замораживания/размораживания.

[163] Биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению предпочтительно демонстрируют хорошую термостабильность с температурой агрегации $\geq 45^{\circ}\text{C}$ или $\geq 50^{\circ}\text{C}$, более предпочтительно $\geq 52^{\circ}\text{C}$ или $\geq 54^{\circ}\text{C}$, даже более предпочтительно $\geq 56^{\circ}\text{C}$ или $\geq 57^{\circ}\text{C}$ и наиболее предпочтительно $\geq 58^{\circ}\text{C}$ или $\geq 59^{\circ}\text{C}$. Параметр термостабильности можно определить в контексте температуры агрегации антитела следующим образом: Раствор антитела в

концентрации 250 мкг/мл переносят в одноразовую кювету и помещают в устройство для исследования методом динамического рассеяния света (ДРС). Образец нагревают от 40°C до 70°C при скорости нагрева 0,5°C/мин с постоянным измерением определяемого радиуса. Увеличение радиуса, указывающее на плавление и агрегацию белка, используют для расчета температуры агрегации антитела.

[164] В альтернативном варианте температурные кривые плавления можно определить методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для определения характеристичной биофизической стабильности белка конструкций антител. Эти эксперименты проводят, используя устройство MicroCal LLC (Northampton, MA, U.S.A) VP-DSC. Поглощение энергии образцом, содержащим конструкцию антитела, записывают от 20°C до 90°C и сравнивают с образцом, содержащим только буфер готовой формы. Конструкции антител доводят до конечной концентрации 250 мкг/мл, например, в подвижном буфере ЭХ. Для получения соответствующей кривой плавления пошагово повышают общую температуру образца. При каждой температуре Т записывают поглощение энергии образца и стандартного буфера готовой формы. Разницу в поглощении энергии C_p (ккал/моль/°C) образца минус стандарт наносят на график как функцию от соответствующей температуры. Температуру плавления определяют как температуру в первом максимуме поглощения энергии.

[165] Также подразумевается, что биспецифические конструкции антител к ВСМАхCD3 согласно изобретению имеют мутность (определяемую по ОП340 после доведения концентрации очищенной мономерной конструкции антитела до 2,5 мг/мл и инкубации в течение ночи) $\leq 0,2$, предпочтительно $\leq 0,15$, более предпочтительно $\leq 0,12$, даже более предпочтительно $\leq 0,1$ и наиболее предпочтительно $\leq 0,08$.

[166] В дополнительном варианте реализации конструкция антитела в соответствии с изобретением стабильна при физиологическом или немного меньшем pH, т. е. pH от около 7,4 до 6,0. Чем лучше конструкция антитела переносит нефизиологический

pH, такой как pH около 6,0, тем выше степень выделения конструкции антитела, элюируемой из ионообменной колонки, по отношению к общему количеству загружаемого белка. Выделение конструкции антитела из ионообменной (например, катионообменной) колонки при pH около 6,0 предпочтительно составляет $\geq 30\%$, более предпочтительно $\geq 40\%$, более предпочтительно $\geq 50\%$, даже более предпочтительно $\geq 60\%$, даже более предпочтительно $\geq 70\%$, даже более предпочтительно $\geq 80\%$, даже более предпочтительно $\geq 90\%$, даже более предпочтительно $\geq 95\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 99\%$.

[167] Дополнительно подразумевается, что биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению демонстрируют терапевтическую эффективность или противоопухолевую активность. Это можно, например, оценить в описанном в нижеприведенном примере исследовании ксенотрансплантатной модели человеческой опухоли на поздней стадии:

[168] На 1 сутки исследования 5×10^6 клеток из линии клеток, положительной в отношении человеческого целевого клеточного антигена (в данном случае: BCMA), подкожно инъецируют в правую заднюю боковую часть самок мышей NOD/SCID. Когда средний объем опухолей достигает около 100 мм^3 , *in vitro* размноженные человеческие CD3-положительные Т-клетки трансплантируют мышам посредством инъекции около 2×10^7 клеток в брюшную полость животных. Мыши из обрабатываемой базовым раствором контрольной группы 1 не получают эффекторные клетки и используются в качестве контроля без трансплантата для сравнения с обрабатываемой базовым раствором контрольной группой 2 (получающей эффекторные клетки), чтобы отслеживать влияние одних Т-клеток на рост опухоли. Обработку антителом начинают, когда средний объем опухолей достигает около 200 мм^3 . Средний объем опухоли для каждой группы обработки в день начала обработки не должен статистически отличаться от любой другой группы (дисперсионный анализ). Мышей обрабатывают $0,5 \text{ мг/кг/сутки}$ биспецифической конструкции антитела к BCMAxCD3 путем внутривенной болюсной инъекции в течение от около 15 до 20 суток. Во время исследования проводят измерение опухолей

калиперами, а прогрессирование оценивают путем сравнения объема опухолей (TV) между группами. Ингибирование роста опухоли T/C [%] определяют, рассчитывая $TV \text{ как } T/C\% = 100 \times (\text{медианный TV в анализируемой группе}) / (\text{медианный TV в контрольной группе } 2)$.

[169] Специалистам известно, как модифицировать или адаптировать определенные параметры этого исследования, такие как число инъецируемых опухолевых клеток, место инъекции, число трансплантируемых человеческих Т-клеток, предназначенное для введения количество биспецифических конструкций антител и график, получая при этом имеющий смысл и воспроизводимый результат. Предпочтительно ингибирование роста опухоли T/C [%] составляет ≤ 70 или ≤ 60 , более предпочтительно ≤ 50 или ≤ 40 , даже более предпочтительно ≤ 30 или ≤ 20 и наиболее предпочтительно ≤ 10 или ≤ 5 или даже $\leq 2,5$.

[170] В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению конструкция антитела представляет собой одноцепочечную конструкцию антитела.

[171] Также в предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению указанный третий домен содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

шарнир-CH₂-CH₃-линкер-шарнир-CH₂-CH₃.

[172] В одном варианте реализации изобретения каждый из указанных полипептидных мономеров третьего домена имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную последовательности, выбранной из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 17-24. В предпочтительном варианте реализации изобретения каждый из указанных полипептидных мономеров имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-24.

[173] Также в одном варианте реализации изобретения домен CH₂ одного или предпочтительно каждого (обоих) полипептидных мономеров третьего домена содержит внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик. Как известно в данной области техники, термин «цистеиновый дисульфидный мостик» относится к функциональной группе с общей структурой R-S-S-R. Такая связь

также называется SS-связью или дисульфидным мостиком и получена путем сопряжения двух тиольных групп остатков цистеина. Для конструкции антитела согласно изобретению в особенности предпочтительно, чтобы цистеины, образующие цистеиновый дисульфидный мостик в зрелой конструкции антитела, были внесены в аминокислотную последовательность домена CH2, соответствующую позициям 309 и 321 (нумерация Kabat).

[174] В одном варианте реализации изобретения удален участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat домена CH2. Предпочтительно, чтобы это удаление участка гликозилирования обеспечивала замена N314X, где X представляет собой любую аминокислоту за исключением Q. Указанная замена предпочтительно представляет собой замену N314G. В более предпочтительном варианте реализации изобретения указанный домен CH2 дополнительно содержит следующие замены (позиции в соответствии с Kabat): V321C и R309C (эти замены вносят внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat).

[175] Предполагается, что предпочтительные характеристики конструкции антитела согласно изобретению по сравнению, например, с известной в данной области техники биспецифической конструкцией антитела на основе гетеро-Fc (фигура 1b) могут быть, помимо прочего, связаны с внесением вышеописанных модификаций в домен CH2. Таким образом, для конструкции согласно изобретению предпочтительно, чтобы домены CH2 в третьем домене конструкции антитела согласно изобретению содержали внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat и/или участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat был удален посредством описанной выше замены N314X, предпочтительно замены N314G.

[176] В дополнительном предпочтительном варианте реализации изобретения домены CH2 в третьем домене конструкции антитела согласно изобретению содержат внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat, а участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat удален посредством замены N314G. Наиболее предпочтительно полипептидный мономер в третьем домене конструкции антитела согласно изобретению имеет

аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17 и 18.

[177] В одном варианте реализации в изобретении предложена конструкция антитела, в которой:

(i) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;

(ii) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;

(iii) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела; или

(iv) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела.

[178] Соответственно, первый и второй домены могут представлять собой связывающие домены, каждый из которых содержит два переменных домена антитела, таких как домены VH и VL. Примеры таких связывающих доменов, содержащих два переменных домена антитела, были описаны выше в данном документе и включают, например, фрагменты Fv, фрагменты scFv или фрагменты Fab, описанные выше в данном документе. В альтернативном варианте один или оба этих связывающих домена могут содержать только один переменный домен. Примеры таких однодоменных связывающих доменов были описаны выше в данном документе и включают, например, нанотела или содержащие один переменный домен антитела, содержащие только один переменный домен, который может представлять собой VHH, VH или VL, который специфически связывает антиген или эпитоп независимо от других V-областей или доменов.

[179] В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению первый и второй домены слиты с третьим доменом посредством пептидного линкера. Предпочтительный пептидный линкер был описан выше в данном документе и характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т. е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т. е.

(Gly₄Ser)_x, где *x* представляет собой целое число, равное 1 или более (например, 2 или 3). В особенности предпочтительный линкер для слияния первого и второго доменов с третьим доменом приведен в SEQ ID NO: 1.

[180] В предпочтительном варианте реализации конструкция антитела согласно изобретению характеризуется тем, что содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

- (a) первый домен;
- (b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;
- (c) второй домен;
- (d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;
- (e) первый полипептидный мономер третьего домена;
- (f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и
- (g) второй полипептидный мономер третьего домена.

[181] Конструкция антитела согласно данному изобретению содержит первый домен, который связывается с ВСМА, предпочтительно с внеклеточным доменом (ВКД) ВСМА. Подразумевается, что термин «связывание с внеклеточным доменом ВСМА» в контексте данного изобретения означает, что связывающий домен связывается с ВСМА, экспрессируемым на поверхности клетки-мишени. Следовательно, первый домен в соответствии с изобретением предпочтительно связывается с ВСМА, когда он экспрессируется клетками или линиями клеток с естественной экспрессией и/или клетками или линиями клеток, трансформированными или (стабильно/временно) трансфицированными ВСМА. В предпочтительном варианте реализации изобретения первый связывающий домен также связывается с ВСМА, когда ВСМА используется в качестве молекулы «мишени» или «лиганда» в *in vitro* анализе связывания, таком как BIAcore или анализ Скэтчарда. «Клетка-мишень» может представлять собой любую

прокариотическую или эукариотическую клетку, экспрессирующую ВСМА на поверхности; предпочтительно клетка-мишень представляет собой клетку, которая является частью организма человека или животного, такую как конкретные экспрессирующие ВСМА раковые или опухолевые клетки.

[182] Предпочтительно первый домен связывается с ВСМА/ВКД ВСМА человека. Предпочтительная последовательность ВСМА человека приведена в SEQ ID NO: 41, а предпочтительная последовательность ВКД ВСМА человека приведена в SEQ ID NO: 42. В дополнительном предпочтительном варианте реализации изобретения он связывается с ВСМА/ВКД ВСМА макака. Предпочтительная последовательность ВСМА макака приведена в SEQ ID NO: 43, а предпочтительная последовательность ВКД ВСМА макака приведена в SEQ ID NO: 44. В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом реализации изобретения первый домен связывается с ВСМА/ВКД ВСМА как человека, так и макака. «Внеклеточный домен ВСМА» или «ВКД ВСМА» относится к области или последовательности ВСМА, которая практически не содержит трансмембранные и цитоплазматические домены ВСМА. Специалисту в данной области техники понятно, что трансмембранный домен, определяемый для полипептида ВСМА согласно данному изобретению, определяется на основании критериев, обычно применяемых в данной области техники для определения гидрофобного домена такого типа. Точные границы трансмембранного домена могут варьироваться, но скорее всего не более чем на около 5 аминокислот в любом конце домена, специальным образом указанного в данном документе. Предпочтительная аминокислотная последовательность полноразмерного ВСМА приведена в SEQ ID NO: 41. Предпочтительный ВКД ВСМА приведен в SEQ ID NO: 42.

[183] Предпочтительные связывающие домены, которые связываются с ВСМА, описаны в WO 2013/072406, WO 2013/072415 и WO 2014/140248. Любой связывающий домен для ВСМА, описанный в этих заявках, можно применять в контексте данного изобретения.

[184] В одном аспекте изобретения конструкция антитела содержит в порядке от амино-конца к карбокси-концу:

(а) первый домен, имеющий аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53, 59, 71, 77, 89 или 95;

(b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;

(c) второй домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 из WO 2008/119567 или SEQ ID NO: 15;

(d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;

(e) первый полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24;

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

[185] Наряду с этим предпочтительным вариантом реализации, первый и второй домены, которые слиты посредством пептидного линкера с третьим доменом, содержат последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53, 59, 71, 77, 89 или 95. В одном аспекте изобретения конструкция антитела согласно изобретению характеризуется тем, что имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 55, 56, 61, 62, 73, 74, 79, 80, 91, 92, 97 и 98.

[186] В изобретении дополнительно предложены полинуклеотид/молекула нуклеиновой кислоты, кодирующие конструкцию антитела согласно изобретению. Полинуклеотид представляет собой биополимер, состоящий из 13 или более нуклеотидных мономеров, ковалентно связанных в цепи. ДНК (такая как кДНК) и РНК (такая как мРНК) являются примерами

полинуклеотидов с разной биологической функцией. Нуклеотиды представляют собой органические молекулы, служащие в качестве мономеров или субъединиц молекул нуклеиновых кислот, таких как ДНК или РНК. Молекула нуклеиновой кислоты или полинуклеотид может быть двухцепочечной или одноцепочечной, линейной или круговой. Предпочтительно она находится в векторе, который предпочтительно находится в клетке-хозяине. Указанная клетка-хозяин, например, после трансформации или трансфекции вектором или полинуклеотидом согласно изобретению способна экспрессировать конструкцию антитела. С этой целью полинуклеотид или молекула нуклеиновой кислоты функционально связаны с регуляторными последовательностями.

[187] Генетический код представляет собой набор правил, посредством которого информация, закодированная в генетическом материале (нуклеиновых кислотах), транслируется в белок. Биологическая расшифровка в живых клетках осуществляется рибосомой, которая связывает аминокислоты в порядке, определяемом мРНК, используя молекулы тРНК для переноса аминокислот и для считывания тринуклеотидов мРНК за раз. Код определяет, как последовательности этих нуклеотидных триплетов, называемых кодонами, предопределяют, какую аминокислоту следует добавлять следующей во время синтеза белка. За некоторыми исключениями тринуклеотидный кодон в последовательности нуклеиновой кислоты предопределяет одну аминокислоту. Так как подавляющее большинство генов кодируется абсолютно одинаковым кодом, этот конкретный код часто называют каноническим или стандартным генетическим кодом. Хотя генетический код определяет белковую последовательность для данной кодирующей области, другие геномные области могут влиять на то, когда и где вырабатываются эти белки.

[188] Кроме того, в изобретении предложен вектор, содержащий полинуклеотид/молекулу нуклеиновой кислоты согласно изобретению. Вектор представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, применяемую в качестве носителя для переноса (чужеродного) генетического материала в клетку. Термин «вектор» включает, но не ограничивается этим, плазмиды, вирусы, космиды и

искусственные хромосомы. В общем случае сконструированные векторы содержат точку начала репликации, участок мультиклонирования и селективный маркер. Сам вектор в общем случае представляет собой нуклеотидную последовательность, обычно последовательность ДНК, которая содержит вставку (трансен), и более крупную последовательность, которая служит «скелетом» вектора. Современные векторы могут включать в себя дополнительные элементы помимо вставки трансгена и скелета: промотор, генетический маркер, устойчивость к антибиотикам, репортерный ген, нацеливающую последовательность, метку для очистки белка. Векторы, называемые экспрессионными векторами (экспрессионными конструкциями) специально предназначены для экспрессии трансгена в клетке-мишени и в общем случае содержат регуляторные последовательности.

[189] Термин «регуляторные последовательности» относится к последовательностям ДНК, необходимым для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Регуляторные последовательности, которые подходят для прокариот, например, включают промотор, необязательно, последовательность оператора и участок связывания рибосомы. Известно, что в эукариотических клетках используются промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры.

[190] Нуклеиновая кислота является «функционально связанной», когда она находится в функциональной взаимосвязи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК для предпоследовательности или секреторной лидерной последовательности функционально связана с ДНК для полипептида, если она экспрессируется в виде белка-предшественника, который принимает участие в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или участок связывания рибосомы функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен так, чтобы облегчать трансляцию. В общем случае «функционально связанный» означает, что связанные последовательности ДНК являются смежными и, в случае секреторной лидерной последовательности, смежными и в

фазе считывания. При этом энхансеры не должны быть смежными. Связывание осуществляется путем лигирования в удобных рестрикционных участках. Если такие участки не существуют, используют синтетические олигонуклеотидные адапторы или линкеры в соответствии с традиционной практикой.

[191] «Трансфекция» представляет собой процесс преднамеренного внесения молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов (включая векторы) в клетки-мишени. Этот термин используется в основном для невирусных методов в эукариотических клетках. Трансдукцию часто используют для описания опосредованного вирусом переноса молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов. Трансфекция клеток животных, как правило, включает открытие временных пор или «дыр» в клеточной мембране для того, чтобы сделать возможным поглощение материала. Трансфекцию можно проводить, используя фосфат кальция, путем электропорации, путем сжатия клеток или путем смешивания катионного липида с материалом для получения липосом, которые сливаются с клеточной мембраной и оставляют свой груз внутри.

[192] Термин «трансформация» используют для описания невирусного переноса молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов (включая векторы) в бактерии и также в не принадлежащие животным эукариотические клетки, включая клетки растений. Следовательно, трансформация представляет собой генетическое изменение бактериальной или не принадлежащей животному эукариотической клетки в результате прямого поглощения через клеточную (ые) мембрану (ы) из окружающей среды и последующее включение экзогенного генетического материала (молекул нуклеиновых кислот). Трансформацию можно проводить искусственными средствами. Для того, чтобы произошла трансформация, клетки или бактерии должны находиться в состоянии компетентности, которое может наступать в виде ограниченного во времени ответа на внешние условия, такие как голодание и плотность клеток.

[193] Кроме того, в изобретении предложена клетка-хозяин, трансформированная или трансфицированная полинуклеотидом/молекулой нуклеиновой кислоты или вектором

согласно изобретению. В контексте данного документа подразумевается, что термины «клетка-хозяин» или «реципиентная клетка» включают любую отдельную клетку или культуру клеток, которые могут быть или были реципиентами векторов, молекул экзогенных нуклеиновых кислот и полинуклеотидов, кодирующих конструкцию антитела согласно данному изобретению; и/или реципиентами самой конструкции антитела. Внесение соответствующего материала в клетку проводят путем трансформации, трансфекции и т. д. Также подразумевается, что термин «клетка-хозяин» включает потомство или потенциальное потомство одной клетки. Так как в последующих поколениях могут возникать определенные модификации вследствие естественной, случайной или преднамеренной мутации или вследствие влияния со стороны окружающей среды, такое потомство может в действительности не быть полностью идентичным (по морфологии или по комплекту геномной или общей ДНК) с родительской клеткой, но все равно в контексте данного документа включено в объем указанного термина. Подходящие клетки-хозяева включают прокариотические или эукариотические клетки и также включают, но не ограничиваются этим, бактерии, клетки дрожжей, клетки грибов, клетки растений и клетки животных, такие как клетки насекомых и клетки млекопитающих, например, мышей, крыс, макак или человека.

[194] Конструкцию антитела согласно изобретению можно получать в бактериях. После экспрессии конструкцию антитела согласно изобретению выделяют из клеточной пасты *E. coli* в растворимую фракцию и затем ее можно очищать с помощью, например, аффинной или эксклюзионной хроматографии. Конечную очистку можно проводить аналогично с процессом очистки антитела, экспрессируемого, например, в клетках CHO.

[195] Кроме прокариот, эукариотические микробы, такие как нитевидные грибы или дрожжи, являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии конструкции антитела согласно изобретению. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи наиболее часто используются среди микроорганизмов-хозяев из низших эукариот. При этом большое число других родов, видов и штаммов являются общепринятыми и применимыми в данном случае,

например, *Schizosaccharomyces pombe*, хозяева из *Kluyveromyces*, такие как *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilae* (ATCC 36906), *K. Thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402 226); *Pichia pastoris* (EP 183 070); *Candida*; *Trichoderma reesei* (EP 244 234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces*, такие как *Schwanniomyces occidentalis*; и нитевидные грибы, такие как *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, и хозяева *Aspergillus*, такие как *A. nidulans* и *A. niger*.

[196] Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированной конструкции антитела согласно изобретению получены из многоклеточных организмов. Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были определены многочисленные бакуловирусные штаммы и варианты и соответствующие перmissive клетки-хозяева насекомых, такие как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (москит), *Aedes albopictus* (москит), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombyx mori*. Общеизвестными являются различные вирусные штаммы для трансфекции, например, вариант L-1 *Autographa californica* NPV и штамм Bm-5 *Bombyx mori* NPV, и такие вирусы можно использовать в качестве вируса в соответствии с настоящим изобретением, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

[197] Растительные клеточные культуры хлопка, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томата, арабидопсиса и табака также можно использовать в качестве хозяев. Клонированные и экспрессионные векторы, применяемые для получения белков в растительной клеточной культуре, известны специалистам в данной области техники. Смотрите, например, Hiatt et al., Nature (1989) 342: 76-78, Owen et al. (1992) Bio/Technology 10: 790-794, Artsaenko et al. (1995) The Plant J 8: 745-750, и Fecker et al. (1996) Plant Mol Biol 32: 979-986.

[198] Однако наибольший интерес представляют клетки позвоночных, а размножение клеток позвоночных в культуре (тканевой культуре) стало рутинной процедурой. Примерами

применимых линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линия почки эмбриона человека (клетки 293 или 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомяка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); клетки Сертоли мышей (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76, ATCC CRL1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени серой крысы (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, 1413 8065); клетки опухоли молочной железы мышей (MMT 060562, ATCC CCL5 1); клетки TRI (Mather et al., Annals N. Y Acad. Sci. (1982) 383: 44-68); клетки MRC 5; клетки FS4; и линия гепатомы человека (Hep G2).

[199] В дополнительном варианте реализации в изобретении предложен процесс для получения конструкции антитела согласно изобретению, включающий культивирование клетки-хозяина согласно изобретению, в условиях, обеспечивающих экспрессию конструкции антитела согласно изобретению, и выделение полученной конструкции антитела из культуры.

[200] В контексте данного документа термин «культивирование» относится к *in vitro* поддержанию, дифференцировке, росту, пролиферации и/или размножению клеток в подходящих условиях в среде. Термин «экспрессия» включает любой этап, проводимый для получения конструкции антитела согласно изобретению, включая, но не ограничиваясь этим, транскрипцию, посттранскрипционную модификацию, трансляцию, посттрансляционную модификацию и секрецию.

[201] При применении рекомбинантных технологий конструкцию антитела можно получать внутри клетки, в периплазматическом пространстве или она может непосредственно секретироваться в среду. Если конструкцию антитела получают внутри клетки, на первом этапе удаляют дебрис в виде частиц, как клеток-хозяев,

так и лизированных фрагментов, например, путем центрифугирования или ультрафильтрации. В Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992) описана процедура для выделения антител, которые секретируются в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную пасту размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), ЭДТК и фенилметилсульфонилфторида (ФМСФ) в течение около 30 мин. Клеточный дебрис удаляют путем центрифугирования. Если антитело секретируется в среду, супернатанты из таких экспрессионных систем в общем случае сначала концентрируют, используя коммерчески доступный фильтр для концентрирования белка, например, установку для ультрафильтрации Amicon или Millipore Pellicon. На любом из вышеуказанных этапов может быть включен ингибитор протеаз, такой как ФМСФ, для ингибирования протеолиза, а антибиотики могут быть включены для предотвращения роста занесенных загрязнителей.

[202] Конструкцию антитела согласно изобретению, полученную из клеток-хозяев, можно выделять или очищать, используя, например, хроматографию с гидроксилапатитом, гель-электрофорез, диализ и аффинную хроматографию. Также, в зависимости от предназначенного для выделения антитела, доступны другие методики очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на силикагеле, хроматография на гепарине-сефарозе™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (такой как колонка с полиаспаргиновой кислотой), хроматофокусирование, ДСН-ПААГ и осаждение сульфатом аммония. Если конструкция антитела согласно изобретению содержит домен СН3, для очистки применяют смолу Bakerbond ABX (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ).

[203] Аффинная хроматография является предпочтительной методикой очистки. Матрица, к которой присоединяется аффинный лиганд, наиболее часто является агарозой, но также доступны другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемым размером пор или поли(стиролдивинил)бензен, обеспечивают большую скорость потока и меньшее время обработки по сравнению с агарозой.

[204] Кроме того, в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию антитела согласно изобретению или конструкцию антитела, полученную в соответствии со способом согласно изобретению. Для фармацевтической композиции согласно изобретению предпочтительно, чтобы гомогенность конструкции антитела составляла $\geq 80\%$, более предпочтительно $\geq 81\%$, $\geq 82\%$, $\geq 83\%$, $\geq 84\%$ или $\geq 85\%$, еще предпочтительнее $\geq 86\%$, $\geq 87\%$, $\geq 88\%$, $\geq 89\%$ или $\geq 90\%$, еще предпочтительнее $\geq 91\%$, $\geq 92\%$, $\geq 93\%$, $\geq 94\%$ или $\geq 95\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 96\%$, $\geq 97\%$, $\geq 98\%$ или $\geq 99\%$.

[205] В контексте данного документа термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, подходящей для введения пациенту, предпочтительно пациенту-человеку. В особенности предпочтительная фармацевтическая композиция согласно данному изобретению содержит одну или множество конструкций антител согласно изобретению, предпочтительно в терапевтически эффективном количестве. Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит подходящие готовые формы одного или более (фармацевтически эффективных) носителей, стабилизаторов, вспомогательных веществ, разбавителей, солюбилизаторов, поверхностно-активных веществ, эмульсификаторов, консервантов и/или адъювантов. Приемлемые составляющие композиции предпочтительно являются нетоксичными для реципиентов в применяемых дозировках и концентрациях. Фармацевтические композиции согласно изобретению включают, но не ограничиваются этим, жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции.

[206] Композиции согласно изобретению могут содержать фармацевтически приемлемый носитель. В общем случае в контексте данного документа «фармацевтически приемлемый носитель» означает любой и все водные и неводные растворы, стерильные растворы, растворители, буферы, например, растворы фосфатно-солевого буфера (ФСБ), воду, суспензии, эмульсии, такие как эмульсии масло/вода, различные типы смачивающих агентов, липосомы, дисперсионные среды и покрытия, которые совместимы с фармацевтическим введением, в частности, парентеральным

введением. Применение таких сред и агентов в фармацевтических композициях хорошо известно в данной области техники, а композиции, содержащие такие носители, можно составлять хорошо известными традиционными способами.

[207] В определенных вариантах реализации изобретения предложены фармацевтические композиции, содержащие конструкцию антителя согласно изобретению и дополнительно одно или более вспомогательных веществ, таких как те, которые в иллюстративных целях описаны в этом разделе и в другом месте данного документа. В этой связи вспомогательные вещества можно применять в изобретении во многих целях, таких как корректировка физических, химических или биологических свойств готовых форм, например, корректировка вязкости, и/или процессов согласно изобретению для улучшения эффективности и/или для стабилизации таких готовых форм и процессов против деградации и порчи вследствие, например, стрессов, которые возникают во время производства, перевозки, хранения, приготовления перед использованием, введения и впоследствии.

[208] В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция может содержать составляющие материалы в целях модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, всасывания или проникновения композиции (смотрите REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company). В таких вариантах реализации изобретения подходящие составляющие материалы могут включать, но не ограничиваются этим:

аминокислоты, такие как глицин, аланин, глутамин, аспарагин, треонин, пролин, 2-фенилаланин, включая заряженные аминокислоты, предпочтительно лизин, ацетат лизина, аргинин, глутамат и/или гистидин

противомикробные препараты, такие как антибактериальные и противогрибковые агенты

антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, метионин, сульфит натрия или гидрогенсульфит натрия;

буферы, буферные системы или буферные агенты, которые используют для поддержания композиции при физиологическом pH или немного меньшем pH; примерами буферов являются борат, бикарбонат, Трис-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты, сукцинат, фосфат и гистидин; например, Трис-буфер с pH около 7,0-8,5;

неводные растворители, такие как пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные сложные органические эфиры, такие как этилолеат;

водные носители, включая воду, спиртово-водные носители, эмульсии или суспензии, включая солевые и забуференные среды;

биоразлагаемые полимеры, такие как сложные полиэфиры;

объемообразующие агенты, такие как маннит или глицин;

хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТК);

изотонические агенты и агенты, замедляющие всасывание;

комплексообразующие агенты, такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин;

наполнители;

моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); углеводы могут представлять собой нередуцирующие сахара, предпочтительно трегалозу, сахарозу, октасульфат, сорбит или ксилит;

(низкомолекулярные) белки, полипептиды или белковые носители, такие как человеческий или бычий сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины, предпочтительно человеческого происхождения;

красители и ароматизаторы;

серосодержащие восстановительные агенты, такие как глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, [альфа]-монотиоглицерин и тиосульфат натрия;

разбавители;

эмульсификаторы;

гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон;

солеобразующие противоионы, такие как натрий;

консерванты, такие как противомикробные средства, антиоксиданты, хелатирующие агенты, инертные газы и тому подобное; примерами являются бензалкония хлорид, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенолиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода;

комплексы металлов, такие как комплексы Zn-белок;

растворители и сорастворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль);

сахара и сахарные спирты, такие как трегалоза, сахароза, октасульфат, маннит, сорбит или ксилит, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, миоинизитоза, галактоза, лактит, рибит, миоинозит, галактит, глицерин, циклиты (например, инозит), полиэтиленгликоль; и многоатомные сахарные спирты;

суспендирующие агенты;

поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты, такие как плуроники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал; поверхностно-активные вещества могут представлять собой детергенты, предпочтительно с молекулярной массой $>1,2$ кДа, и/или полиэфир, предпочтительно с молекулярной массой >3 кДа; неограничивающими примерами предпочтительных детергентов являются Твин 20, Твин 40, Твин 60, Твин 80 и Твин 85; неограничивающими примерами предпочтительных полимеров являются ПЭГ 3000, ПЭГ 3350, ПЭГ 4000 и ПЭГ 5000;

агенты, повышающие стабильность, такие как сахароза или сорбит;

агенты, повышающие тоничность, такие как галиды щелочных металлов, предпочтительно хлорид натрия или калия, маннит, сорбит;

средства для парентеральной доставки, включая раствор хлорида натрия, декстозу Рингера, декстозу и хлорид натрия, лактат Рингера или жирные масла;

средства для внутривенной доставки, включая наполнители жидкости и питательных веществ, наполнители электролитов

(например, на основе декстрозы Рингера).

[209] Для специалистов в данной области техники очевидно, что разные составляющие фармацевтической композиции (например, перечисленные выше) могут иметь разное действие, например, аминокислота может действовать в качестве буфера, стабилизатора и/или антиоксиданта; маннит может действовать в качестве объемообразующего агента и/или агента, повышающего тоничность; хлорид натрия может действовать в качестве средства для доставки и/или агента, повышающего тоничность.

[210] Подразумевается, что композиция согласно изобретению может содержать, кроме определенного в данном документе полипептида согласно изобретению, дополнительные биологически активные агенты, в зависимости от предполагаемого применения композиции. Такие агенты могут представлять собой лекарственные препараты, действующие на желудочно-кишечную систему, цитостатические лекарственные препараты, лекарственные препараты, предотвращающие гиперурикемию, лекарственные препараты, ингибирующие иммунореакции (например, кортикостероиды), лекарственные препараты, модулирующие воспалительный ответ, лекарственные препараты, действующие на систему кровообращения, и/или агенты, такие как цитокины, известные в данной области техники. Также подразумевается, что конструкцию антитела согласно данному изобретению, применяют в совместной терапии, т. е. в комбинации с другим противораковым медикаментом.

[211] В определенных вариантах реализации изобретения оптимальная фармацевтическая композиция определяется специалистом в данной области техники в зависимости, например, от предполагаемого пути введения, формата доставки и необходимой дозировки. Смотрите, например, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше. В определенных вариантах реализации изобретения такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость *in vivo* высвобождения и скорость *in vivo* выведения конструкции антитела согласно изобретению. В определенных вариантах реализации изобретения основной базовый раствор или носитель в фармацевтической композиции может быть по

своей природе как водным, так и неводным. Например, подходящий базовый раствор или носитель может представлять собой воду для инъекций, физиологический солевой раствор или искусственную цереброспинальную жидкость, возможно дополненные другими материалами, обычными в композициях для парентерального введения. Дополнительными типовыми базовыми растворами являются нейтральный буферный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином. В определенных вариантах реализации композиции конструкции антитела согласно изобретению можно готовить для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей необходимую степень чистоты, с оптимальными составляющими агентами (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше) в форме лиофилизированной лепешки или водного раствора. Кроме того, в определенных вариантах реализации конструкцию антитела согласно изобретению можно готовить в виде лиофилизата, используя соответствующие вспомогательные вещества, такие как сахароза.

[212] Если предполагается парентеральное введение, терапевтические композиции для применения в данном изобретении можно получать в форме апиrogenного, парентерально приемлемого водного раствора, содержащего необходимую конструкцию антитела согласно изобретению в фармацевтически приемлемом базовом растворе. В особенности подходящим базовым раствором для парентеральной инъекции является стерильная дистиллированная вода, в которой конструкцию антитела согласно изобретению готовят в виде стерильного, изотонического раствора, сохраняемого должным образом. В определенных вариантах реализации изобретения препарат может включать готовую форму необходимой молекулы с агентом, таким как инъекционные микросферы, биоразлагаемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), гранулы или липосомы, которые могут обеспечивать контролируемое или замедленное высвобождение продукта, который может доставляться посредством депо-инъекции. В определенных вариантах реализации изобретения также можно использовать гиалуроновую кислоту, действие которой состоит в стимуляции продления нахождения в

циркуляции. В определенных вариантах реализации изобретения можно использовать имплантируемые устройства для внесения необходимой конструкции антитела.

[213] Дополнительные фармацевтические композиции очевидны для специалистов в данной области техники, включая готовые формы, содержащие конструкцию антитела согласно изобретению в составах для замедленного высвобождения или контролируемой доставки/высвобождения. Методики приготовления различных других средств для замедленной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразлагаемые микрочастицы или пористые гранулы и депо-инъекции, также известны специалистам в данной области техники. Смотрите, например, заявку на международный патент № PCT/US93/00829, в которой описано контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. Препараты с замедленным высвобождением могут содержать полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Матрицы для замедленного высвобождения могут содержать сложные полиэфиры, гидрогели, полилактиды (описанные в патенте США № 3773919 и публикации заявки на европейский патент № EP 058481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма этил-L-глутамата (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2:547-556), поли(2-гидроксиэтил-метакрилат) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277 и Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., 1981, выше) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (публикация заявки на европейский патент № EP 133988). Композиции для замедленного высвобождения также могут содержать липосомы, которые можно готовить любым из нескольких способов, известных в данной области техники. Смотрите, например, Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692; публикации заявок на европейский патент № EP 036676; EP 088046 и EP 143949.

[214] Конструкция антитела также может быть заключена в микрокапсулах, приготовленных, например, методами коацервации или межфазной полимеризации (например, микрокапсулы из гидроксиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсулы из

поли(метилметакрилата) соответственно), в коллоидных системах доставки лекарственного препарата (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсиях. Такие методики описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980).

[215] Фармацевтические композиции, применяемые для *in vivo* введения, как правило, предоставляются в виде стерильных препаратов. Стерилизацию можно проводить путем фильтрации через стерильные фильтровальные мембраны. Если композиция является лиофилизированной, стерилизацию с применением этого способа можно проводить до или после лиофилизации и восстановления. Композиции для парентерального введения можно хранить в лиофилизированной форме или в растворе. Парентеральные композиции в общем случае помещают в контейнер, имеющий стерильное входное отверстие, например, пакет для внутривенного раствора или флакон, имеющий пробку, прокалываемую гиподермической иглой для инъекций.

[216] Другой аспект изобретения включает самобуферизирующиеся готовые формы конструкции антитела согласно изобретению, которые можно использовать как фармацевтические композиции, как описано в заявке на международный патент WO 06138181A2 (PCT/US2006/022599). Доступны различные описания для стабилизации белков и составляющих материалов, а также способов, применяемых в связи с этим, например, Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" in: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), и Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), в частности, смотрите части, относящиеся к вспомогательным веществам и связанным с ними процессам для самобуферизирующихся готовых белковых форм в соответствии с настоящим изобретением, в особенности к белковым

фармацевтическим продуктам и процессам для применений в ветеринарии и/или медицине человека.

[217] В соответствии с некоторыми вариантами реализации изобретения можно использовать соли, например, для корректировки ионной силы и/или изотоничности готовой формы, и/или для улучшения растворимости и/или физической стабильности белка или другого ингредиента композиции в соответствии с изобретением. Как хорошо известно, ионы могут стабилизировать нативное состояние белков посредством связывания с заряженными остатками на поверхности белка и путем экранирования заряженных и полярных групп в белке и уменьшения силы их электростатических взаимодействий, взаимодействий притяжения и отталкивания. Ионы также могут стабилизировать денатурированное состояние белка посредством связывания, в частности, с денатурированными пептидными связями ($--CONH$) белка. Кроме того, ионное взаимодействие с заряженными и полярными группами в белке может уменьшать межмолекулярные электростатические взаимодействия и, таким образом, предотвращать или снижать агрегацию и нерастворимость белка.

[218] Ионные молекулы существенно отличаются по своему воздействию на белки. Было разработано большое количество категорийных классификаций ионов и их воздействия на белки, которые можно использовать при приготовлении фармацевтических композиций в соответствии с изобретением. Одним из примеров является ряд Гофмейстера, в котором ионные и полярные неионные растворенные вещества упорядочены в соответствии с их воздействием на конформационную стабильность белков в растворе. Стабилизирующие растворенные вещества называются «космотропными». дестабилизирующие растворенные вещества называются «хаотропными». Космотропы обычно используются в высоких концентрациях (например, >1 -молярный сульфат аммония) для осаждения белков из раствора («высаливание»). Хаотропы обычно используются для денатурации и/или солюбилизации белков («всаливание»). Относительная эффективность ионов в отношении «всаливания» и «высаливания» определяет их позицию в ряде Гофмейстера.

[219] Свободные аминокислоты можно использовать в готовых формах конструкции антитела согласно изобретению в соответствии с различными вариантами реализации изобретения в качестве объемообразующих агентов, стабилизаторов и антиоксидантов, а также для других стандартных применений. Лизин, пролин, серин и аланин можно использовать для стабилизации белков в готовой форме. Глицин применяют при лиофилизации, чтобы гарантировать правильную структуру и свойства лепешки. Аргинин можно применять для ингибирования агрегации белка, как в жидких, так и в лиофилизированных готовых формах. Метионин применяют в качестве антиоксиданта.

[220] Полиолы включают сахара, например, маннит, сахарозу и сорбит, а также многоатомные спирты, такие как, например, глицерин и пропиленгликоль, и, в целях обсуждения в данном документе, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и родственные вещества. Полиолы являются космотропными. Они являются полезными стабилизирующими агентами как в жидких, так и в лиофилизированных готовых формах для защиты белков от процессов физической и химической деградации. Полиолы также применяют для корректировки тоничности готовых форм. Среди полиолов, применяемых в выбранных вариантах реализации изобретения, находится маннит, обычно используемый для гарантии структурной стабильности лепешки в лиофилизированных готовых формах. Он гарантирует структурную стабильность лепешки. В общем случае его используют с лиопротектором, например, сахарозой. Сорбит и сахароза находятся среди предпочтительных агентов для корректировки тоничности и применения в качестве стабилизаторов для защиты от стрессов при замораживании-размораживании во время перевозки или приготовления нерасфасованных форм во время процесса производства. Редуцирующие сахара (которые содержат свободные альдегидные или кетоновые группы), такие как глюкоза или лактоза, могут гликировать поверхностные остатки лизина и аргинина. Следовательно, в общем случае они не находятся среди предпочтительных полиолов для применения в соответствии с этим изобретением. Кроме того, сахара, которые образуют реактивные молекулы, такие как сахароза, которая гидролизует до фруктозы

и глюкозы в кислых условиях и впоследствии приводит к гликированию, в связи с этим также не находятся среди предпочтительных полиолов согласно изобретению. ПЭГ применяют для стабилизации белков и в качестве криопротектора, и в связи с этим его можно применять в данном изобретении.

[221] Варианты реализации конструкции антитела согласно изобретению дополнительно включают поверхностно-активные вещества. Белковые молекулы могут быть восприимчивы в адсорбции на поверхности и денатурации и последующей агрегации на поверхностях раздела воздух-жидкость, твердое вещество-жидкость и жидкость-жидкость. Эти эффекты в общем случае обратно пропорциональны концентрации белка. Эти вредные взаимодействия в общем случае обратно пропорциональны концентрации белка и, как правило, усугубляются физическим взбалтыванием, таким как возникает во время перевозки и работы с продуктом. Поверхностно-активные вещества обычно используют для предотвращения, минимизации или снижения поверхностной адсорбции. В этой связи применимые поверхностно-активные вещества согласно изобретению включают полисорбат 20, полисорбат 80, другие сложные эфиры жирных кислот полиэтоксилатов сорбитана и полуксамер 188. Поверхностно-активные вещества также обычно используют, чтобы регулировать конформационную стабильность белка. Применение поверхностно-активных веществ в этой связи является белок-специфическим, так как любое заданное поверхностно-активное вещество будет стабилизировать одни белки и дестабилизировать другие.

[222] Полисорбаты чувствительны к окислительной деградации и часто в том виде, в котором они поставляются, содержат достаточные количества пероксидов, чтобы вызывать окисление боковых цепей белковых остатков, в особенности метионина. Следовательно, полисорбаты нужно использовать осторожно, а при использовании их следует применять в самой низкой эффективной концентрации. В этой связи полисорбаты являются примером общего правила, что вспомогательные вещества следует применять в самой низкой эффективной концентрации.

[223] Варианты реализации готовых форм конструкции антитела

согласно изобретению дополнительно включают применение одного или более антиоксидантов. Вредное окисление белков в фармацевтических готовых формах можно в некоторой степени предотвратить, поддерживая надлежащие внешние уровни кислорода и температуры и избегая воздействия света. Также можно использовать вспомогательные вещества антиокислительного действия для предотвращения окислительной дегградации белков. Среди применимых в этой связи антиоксидантов находятся восстановительные агенты, ловушки для кислорода/свободных радикалов и хелатирующие агенты. Антиоксиданты для применения в терапевтических белковых готовых формах в соответствии с изобретением предпочтительно растворимы в воде и сохраняют свою активность в продолжение срока годности продукта. ЭДТК является предпочтительным в этой связи антиоксидантом в соответствии с изобретением. Антиоксиданты могут повреждать белки. Например, восстановительные агенты, такие как, в частности, глутатион, могут разрушать внутримолекулярные дисульфидные связи. Таким образом, антиоксиданты для применения в изобретении выбирают так, чтобы, помимо прочего, устранить или существенно снизить возможность повреждения ими белков в готовой форме.

[224] Готовые формы в соответствии с изобретением могут содержать ионы металлов, которые являются кофакторами белков и необходимы для образования координационных комплексов белков, например, как цинк, необходимый для образования некоторых суспензий инсулина. Ионы металлов также могут ингибировать некоторые процессы, которые разрушают белки. Однако ионы металлов также могут катализировать физические и химические процессы, которые разрушают белки. Ионы магния (10-120 мМ) можно использовать для ингибирования изомеризации аспарагиновой кислоты до изоаспарагиновой кислоты. Ионы Ca^{+2} (до 100 мМ) могут повышать стабильность человеческой дезоксирибонуклеазы. Однако Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} могут дестабилизировать рекомбинантную человеческую ДНКазу. Аналогично, Ca^{+2} и Sr^{+2} могут стабилизировать фактор VIII, при этом он может дестабилизироваться Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , Cu^{+2} и Fe^{+2} , а его агрегация может повышаться ионами Al^{+3} .

[225] Варианты реализации готовых форм конструкции антитела

согласно изобретению дополнительно включают применение одного или более консервантов. Консерванты необходимы при разработке многодозовых парентеральных готовых форм, которые предполагают более одного набора из одного и того же контейнера. Их основной функцией является ингибирование роста микроорганизмов и гарантия стерильности продукта на протяжении срока годности или срока применения лекарственного продукта. Обычно используемые консерванты включают бензиловый спирт, фенол и м-крезол. Хотя консерванты давно применяют с низкомолекулярными парентеральными средствами, разработка белковых готовых форм, которые содержат консерванты, может оказаться проблематичной. Консерванты почти всегда оказывают дестабилизирующее действие (агрегация) на белки, и это стало основным фактором в ограничении их применения в многодозовых белковых готовых формах. На данный момент большинство белковых лекарственных препаратов готовят исключительно для одного применения. При этом, в случае возможности многодозовых готовых форм, они имеют дополнительное преимущество обеспечения удобства для пациента и повышения конкурентоспособности на рынке. Хороший пример связан с человеческим гормоном роста (hGH), когда разработка содержащих консерванты готовых форм привела к коммерческой реализации более удобных, многоразовых шприцов-ручек. На сегодня по меньшей мере четыре таких устройства-ручки, содержащих готовые формы hGH с консервантами, доступны на рынке. Нордитропин (жидкий, Novo Nordisk), нутропин AQ (жидкий, Genentech) и генотропин (лиофилизированный, с двухкамерным картриджем, Pharmacia & Upjohn) содержат фенол, тогда как соматроп (Eli Lilly) приготовлен с м-крезолом. При приготовлении и разработке содержащих консерванты дозированных форм необходимо учитывать несколько аспектов. Эффективная концентрация консерванта в лекарственном продукте должна быть оптимизирована. Это требует тестирования данного консерванта в дозированной форме в концентрационном диапазоне, который обеспечивает противомикробную эффективность, не нарушая стабильность белка.

[226] Как можно ожидать, разработка жидких готовых форм, содержащих консерванты, является более сложной, чем в случае

лиофилизированных готовых форм. Высушенные сублимацией продукты можно лиофилизировать без консерванта и восстанавливать с помощью содержащего консервант разбавителя во время использования. Это уменьшает время, в течение которого консервант находится в контакте с белком, что существенно минимизирует связанный с ним риск в отношении стабильности. В случае жидких готовых форм эффективность и стабильность консерванта должна сохраняться в продолжении всего срока годности продукта (от около 18 до 24 месяцев). Важным моментом, который стоит отметить, является то, что эффективность консерванта должна проявляться в конечной готовой форме, содержащей активный лекарственный препарат и все вспомогательные компоненты.

[227] Описанные в данном документе конструкции антител также можно готовить в виде иммуно-липосом. «Липосома» представляет собой маленькую везикулу, состоящую из различного типа липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активного вещества, которую используют для доставки лекарственного препарата в организм млекопитающих. Компоненты липосомы обычно имеют бислоевое упорядочение, аналогично липидному упорядочению биологических мембран. Липосомы, содержащие конструкцию антитела, готовят известными в данной области техники способами, такими как описанные в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); патентах США № 4485045 и 4544545; и W0 97/38731. Липосомы с увеличенным временем нахождения в циркуляции описаны в патенте США № 5013556. В особенности применимые липосомы можно создавать методом обращенно-фазового выпаривания с липидной композицией, содержащей фосфатидилхолин, холестерин и ПЭГ-derivатизированный фосфатидилэтаноламин (ПЭГ-ФЭ). Липосомы пропускают через фильтры с определенным размером пор для получения липосом с необходимым диаметром. Фрагменты Fab' конструкции антитела согласно данному изобретению можно конъюгировать к липосомам, как описано в Martin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982), посредством реакции дисульфидного обмена. В липосоме необязательно содержится химиотерапевтический

агент. Смотрите Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989).

[228] После приготовления фармацевтической композиции ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества, кристалла или в виде обезвоженного или лиофилизированного порошка. Такие готовые формы можно хранить в готовой для применения форме или в форме (например, лиофилизированной), которую восстанавливают перед введением.

[229] Биологическую активность определенной в данном документе фармацевтической композиции можно определить, например, с помощью анализа цитотоксичности, как описано в нижеприведенных примерах, в WO 99/54440 или в Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). В контексте данного документа «эффективность» или «in vivo эффективность» относится к ответу на терапию фармацевтической композицией согласно изобретению, оцениваемому по стандартизированным критериям ответа NCI (Национального института рака). Успех или in vivo эффективность терапии с применением фармацевтической композиции согласно изобретению относится к эффективности композиции в отношении ее предполагаемой цели, т. е. способности композиции оказывать желаемое действие, т. е. уничтожение патологических клеток, например, опухолевых клеток. In vivo эффективность можно отслеживать с помощью общепринятых стандартных методов для соответствующих нозологических форм, включая, но не ограничиваясь этим, число белых кровяных телец, лейкоцитарную формулу, сортировку флуоресцентно-активированных клеток, аспирацию костного мозга. Кроме того, можно использовать различные специфические для заболевания клинические химические параметры и другие общепринятые стандартные методы. Кроме того, можно использовать компьютерную томографию, рентгеновское исследование, ядерную магнитно-резонансную томографию (например, для оценки ответа на основании критериев Национального института рака [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris

NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Доклад на международном семинаре по стандартизированным критериям ответа для неходжкинских лимфом. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr;17(4):1244]), сканирование методом позитронно-эмиссионной томографии, число белых кровяных телец, лейкоцитарную формулу, сортировку флуоресцентно-активированных клеток, аспирацию костного мозга, биопсию/гистологию лимфатических узлов и различные специфические в отношении лимфомы клинические химические параметры (например, уровень лактат дегидрогеназы) и другие общепринятые стандартные методы.

[230] Другой основной задачей при разработке лекарственных препаратов, таких как фармацевтическая композиция согласно изобретению, является прогнозируемая модуляция фармакокинетических свойств. С этой целью можно устанавливать фармакокинетический профиль кандидатного лекарственного препарата, т. е. профиль фармакокинетических параметров, которые влияют на способность конкретного лекарственного препарата лечить заданное патологическое состояние. Фармакокинетические параметры лекарственного препарата, влияющие на способность лекарственного препарата лечить определенную нозологическую форму, включают, но не ограничиваются этим: время полужизни, объем распределения, пресистемный метаболизм в печени и степень связывания сыворотки крови. На эффективность заданного лекарственного агента может влиять каждый из вышеупомянутых параметров. Подразумеваемой характеристикой конструкций антител согласно данному изобретению, предоставляемых со специфической модальностью Fc, является то, что они влекут за собой, например, разницу в фармакокинетическом поведении. Нацеливающая конструкция антитела с продленным временем полужизни в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно демонстрирует неожиданно возросшее время удержания *in vivo* по сравнению с «каноническими» не-HLE версиями указанной конструкции антитела.

[231] «Время полужизни» означает время, за которое выводится 50% введенного лекарственного препарата посредством биологических процессов, например, метаболизма, экскреции и т.

д. Под «пресистемным метаболизмом в печени» подразумевается подверженность лекарственного препарата метаболизму после первого контакта с печенью, т. е. во время первого прохождения через печень. «Объем распределения» означает степень удержания лекарственного препарата в различных компартментах организма, таких как, например, внутриклеточное и внеклеточное пространство, ткани или органы и т. д., и распределение лекарственного препарата в этих компартментах. «Степень связывания сыворотки крови» означает предрасположенность лекарственного препарата к взаимодействию и связыванию с белками сыворотки крови, такими как альбумин, что приводит к снижению или утрате биологической активности лекарственного препарата.

[232] Фармакокинетические параметры также включают биодоступность, временной лаг (Tlag), Tmax, скорость всасывания, начало действия и/или Cmax для заданного количества вводимого лекарственного препарата. «Биодоступность» означает количество лекарственного препарата в кровяном компартменте. «Временной лаг» означает время запаздывания между введением лекарственного препарата и его выявлением и возможностью определения в крови или плазме. «Tmax» представляет собой время, через которое достигается максимальная концентрация лекарственного препарата в крови, а «Cmax» представляет максимальную концентрацию в крови, получаемую при применении данного лекарственного препарата. На время, необходимое для достижения концентрации лекарственного препарата в крови или ткани, которая требуется для биологического действия, влияют все параметры. Фармакокинетические параметры биспецифических конструкций антител, демонстрирующих межвидовую специфичность, которые можно определить в доклинических исследованиях на животных для отличных от шимпанзе приматов, как указано выше, также приведены, например, в публикации Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12).

[233] В предпочтительном аспекте изобретения фармацевтическая композиция является стабильной по меньшей мере в течение четырех недель при около -20°C. Как очевидно из

прилагающихся примеров, качество конструкции антитела согласно изобретению по сравнению с качеством соответствующих существующему уровню техники конструкций антител можно исследовать, используя разные системы. Понятно, что эти исследования согласуются с "ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Stability Testing of Biotechnological/Biological Products Q5C and Specifications: Test procedures and Acceptance Criteria for Biotech Biotechnological/Biological Products Q6B*" и, следовательно, выбраны так, чтобы обеспечивать указывающий на стабильность профиль, который обеспечивает достоверность выявления изменений в идентичности, чистоте и эффективности продукта. Общепринято, что термин чистота является относительным термином. Вследствие действия гликозилирования, деамидирования или другой гетерогенности абсолютную чистоту биотехнологического/биологического продукта, как правило, следует оценивать более чем одним способом, а полученное значение чистоты зависит от способа. В целях испытания стабильности, исследования в отношении чистоты должны фокусироваться на способах определения продуктов деградации.

[234] Для оценки качества фармацевтической композиции, содержащей конструкцию антитела согласно изобретению, можно проводить анализ, например, анализируя содержание растворимых агрегатов в растворе (ВМК, оцениваемые с помощью эксклюзионной хроматографии). Предпочтительно, чтобы стабильность в течение по меньшей мере четырех недель при около -20°C характеризовалась содержанием менее 1,5% ВМК, предпочтительно менее 1% ВМК.

[235] Предпочтительная готовая форма конструкции антитела в виде фармацевтической композиции может, например, содержать компоненты готовой формы, описанные ниже:

□ Готовая форма А: фосфат калия, L-аргинина гидрохлорид, дигидрат трегалозы, полисорбат 80 при pH 6,0

[236] Другие примеры оценки стабильности конструкции антитела согласно изобретению в форме фармацевтической композиции приведены в прилагающихся примерах 4-12. В этих примерах варианты реализации конструкций антител согласно

изобретению исследуют в отношении разных стрессовых условий в разных фармацевтических готовых формах, а результаты сравнивают с другими продлевающими время полужизни (HLE) форматами биспецифической, вовлекающей Т-клетки, конструкции антитела, известными в данной области техники. В общем случае подразумевается, что конструкции антител, имеющие специфическую модальность Fc, в соответствии с настоящим изобретением, как правило, являются более стабильными в широком ряде стрессовых условий, таких как температурный с световой стресс, по сравнению с конструкциями антител, имеющими разные HLE-форматы, и в отсутствие какого-либо HLE-формата (т. е. «каноническими» конструкциями антител). Указанная температурная стабильность может относиться как к пониженной (ниже комнатной температуры, включая замораживание), так и к повышенной (выше комнатной температуры, включая температуры до или выше температуры тела) температуре. Как понятно специалисту в данной области техники, такая улучшенная стабильность в отношении стресса, которого трудно избежать при клинической практической реализации, делает конструкцию антитела более безопасной, так как при клинической практической реализации возникает меньше продуктов деградации. Соответственно, указанная повышенная стабильность означает повышенную безопасность.

[237] В одном варианте реализации предложена конструкция антитела согласно изобретению или конструкция антитела, полученная в соответствии со способом согласно изобретению, для применения в предотвращении, лечении или уменьшении интенсивности В-клеточного нарушения, коррелирующего с экспрессией ВСМА или сверхэкспрессией ВСМА, нарушения, связанного с плазматическими клетками, и аутоиммунного нарушения.

[238] Описанные в данном документе готовые формы применимы в качестве фармацевтических композиций в лечении, уменьшении интенсивности и/или предотвращении описанного в данном документе патологического состояния у нуждающегося в этом пациента. Термин «лечение» относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. Лечение включает

применение или введение готовой формы в организм, выделенную ткань или клетку пациента, который имеет заболевание/нарушение, симптом заболевания/нарушения или предрасположенность к заболеванию/нарушению, с целью лечения, излечения, смягчения, облегчения, изменения, исправления, уменьшения интенсивности, улучшения или воздействия на заболевание, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию.

[239] В контексте данного документа термин «уменьшение интенсивности» относится к любому улучшению состояния заболевания у пациента, имеющего заболевание, указанное ниже в данном документе, посредством введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с изобретением. Такое улучшение также может проявляться как замедление или прекращение прогрессирования заболевания пациента. В контексте данного документа термин «предотвращение» означает предупреждение появления или повторного появления пациента, имеющего опухоль или рак, или метастатический рак, указанные ниже в данном документе, посредством введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с изобретением.

[240] Термин «заболевание» относится к любому патологическому состоянию, на которое лечение описанными в данном документе конструкцией антитела или фармацевтической композицией оказало бы благоприятное действие. Он включает хронические и острые нарушения или заболевания, включая те патологические состояния, которые являются причиной предрасположенности млекопитающего к рассматриваемому заболеванию.

[241] «Новообразование» представляет собой аномальное разрастание ткани, обычно, но не всегда образующее массу. При образовании массы оно также называется «опухолью». Новообразования или опухоли могут быть доброкачественными, потенциально злокачественными (предраковыми) или злокачественными. Злокачественные новообразования обычно называют раком. Они обычно инвазируют и разрушают окружающую ткань и могут образовывать метастазы, т. е. они распространяются

в другие части, ткани или органы тела. Следовательно, термин «метастатический рак» включает метастазы в другие ткани или органы помимо тех, где находится исходная опухоль. Лимфомы и лейкозы являются лимфоидными новообразованиями. В целях данного изобретения они также включены в термины «опухоль» или «рак».

[242] Термин «вирусное заболевание» описывает заболевания, которые возникают в результате вирусной инфекции у субъекта.

[243] В контексте данного документа термин «иммунологическое нарушение» описывает, наряду с обычным определением этого термина, иммунологические нарушения, такие как аутоиммунные заболевания, гиперчувствительность, иммунодефицит.

[244] В одном варианте реализации в изобретении предложен способ лечения или уменьшения интенсивности В-клеточного нарушения, коррелирующего с экспрессией ВСМА или сверхэкспрессией ВСМА, нарушения, связанного с плазматическими клетками, или аутоиммунного заболевания, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела согласно изобретению или конструкции антитела, полученной в соответствии со способом согласно изобретению.

[245] При нарушениях, связанных с плазматическими клетками, один из клонов плазматических клеток неконтролируемо размножается. В результате этот клон вырабатывает огромное количество одного (моноклонального) антитела, известного как М-протеин. В некоторых случаях, например при моноклональных гаммапатиях, вырабатываемое антитело является неполным, состоящим только из легких цепей или тяжелых цепей. Эти аномальные плазматические клетки и вырабатываемые ими антитела обычно ограничены одним типом.

[246] Предпочтительно нарушение, связанное с плазматическими клетками, выбрано из группы, состоящей из множественной миеломы, плазмацитомы, плазмноклеточного лейкоза, макроглобулинемии, амилоидоза, макроглобулинемии Вальденстрема, солитарной костной плазмацитомы, экстрамедуллярной плазмацитомы, остеосклеротической миеломы, болезней тяжелых цепей, моноклональной гаммапатии неясного значения и вялотекущей

множественной миеломы. В-клеточные нарушения также могут быть выбраны из группы, состоящей из В-клеточной неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза и ходжкинской лимфомы.

[247] Аутоиммунное заболевание представляет собой, например, системную красную волчанку (СКВ) или ревматоидный артрит (РА).

[248] Термины «нуждающийся субъект» или «нуждающийся в лечении» включают тех, у кого уже есть нарушение, а также тех, у кого необходимо предотвратить нарушение. Нуждающийся субъект или «пациент» включает людей или других млекопитающих субъектов, которые получают профилактическое или терапевтическое лечение.

[249] Конструкция антитела согласно изобретению в общем случае сконструирована для конкретных путей и способов введения, для конкретных дозировок и частоты введения, для конкретных вариантов лечения конкретных заболеваний, с определенными диапазонами биодоступности и способности сохранения в организме, помимо прочего. Материалы композиции предпочтительно готовят в концентрациях, которые являются приемлемыми для данного участка введения.

[250] Таким образом, готовые формы и композиции могут быть получены в соответствии с изобретением для доставки любым подходящим путем введения. В контексте данного изобретения пути введения включают, но не ограничиваются этим

местные пути (такие как накожный, ингаляционный, назальный, глазной, аурикулярный/ушной, вагинальный, мукозальный);

энтеральные пути (такие как пероральный, желудочно-кишечный, подъязычный, сублабиальный, буккальный, ректальный);

парентеральные пути (такие как внутривенный, внутриартериальный, внутрикостный, внутримышечный, внутримозговой, интрацеребровентрикулярный, эпидуральный, интратекальный, подкожный, внутрибрюшинный, экстраамниотический, внутрисуставной, внутрисердечный, внутрикожный, внутриочаговый, внутриматочный, интравезикальный, интравитреальный, трансдермальный, интраназальный, трансмукозальный, интрасиновиальный, интралюминальный).

[251] Фармацевтические композиции и конструкции антител согласно данному изобретению в особенности применимы для парентерального введения, например, подкожной или внутривенной доставки, например, путем инъекции, такой как болюсная инъекция, или путем инфузии, такой как непрерывная инфузия. Фармацевтические композиции можно вводить с помощью устройства медицинского назначения. Примеры устройств медицинского назначения для введения фармацевтических композиций описаны в патентах США № 4475196; 4439196; 4447224; 4447233; 4486194; 4487603; 4596556; 4790824; 4941880; 5064413; 5312335; 5312335; 5383851; и 5399163.

[252] В частности, в данном изобретении предложено непрерывное введение подходящей композиции. В качестве неограничивающего примера непрерывное или по существу непрерывное, т. е. продолжительное введение можно реализовать с помощью небольшой насосной системы, носимой пациентом, для дозирования подачи терапевтического агента в организм пациента. Фармацевтическую композицию, содержащую конструкцию антитела согласно изобретению, можно вводить, используя указанные насосные системы. В общем случае такие насосные системы известны в данной области техники, а их работа обычно основана на периодической замене картриджей, содержащих предназначенный для инфузии терапевтический агент. Замена картриджа в такой насосной системе влечет за собой временное прерывание или какое-либо иное прерывание потока терапевтического агента в организм пациента. В таком случае фаза введения до замены картриджа и фаза введения после замены картриджа все равно рассматриваются в рамках значения фармацевтических средств и способов согласно изобретению, которые вместе составляют одно «непрерывное введение» такого терапевтического агента.

[253] Продолжительное или непрерывное введение конструкций антител согласно изобретению может быть внутривенным или подкожным и осуществляться посредством устройства для доставки жидкости или небольшой насосной системы, включая механизм направления жидкости для направления жидкости из резервуара и приводной механизм для приведения в действие направляющего

механизма. Насосные системы для подкожного введения могут содержать иглу или канюлю для прокалывания кожи пациента и доставки подходящей композиции в организм пациента. Указанные насосные системы могут быть напрямую прикреплены или присоединены к коже пациента независимо от вен, артерий и кровяных сосудов, обеспечивая, таким образом, прямой контакт между насосной системой и кожей пациента. Насосная система может быть присоединена к коже пациента в течение от 24 часов до нескольких суток. Насосная система может иметь небольшой размер с резервуаром для небольших объемов. В качестве неограничивающего примера объем резервуара для предназначенной для введения подходящей фармацевтической композиции может составлять от 0,1 до 50 мл.

[254] Продолжительное введение также может осуществляться трансдермальным путем посредством пластыря, носимого на коже и заменяемого через определенные интервалы. Специалисту в данной области техники известны подходящие для этой цели системы на основе пластырей для доставки лекарственного препарата. Следует отметить, что трансдермальное введение в особенности подходит для непрерывного введения, так как замену первого израсходованного пластыря можно преимущественно осуществлять одновременно с размещением нового, второго пластыря, например, на поверхности кожи, непосредственно вблизи первого израсходованного пластыря и непосредственно перед удалением первого израсходованного пластыря. Не возникает проблем с прерыванием потока или прекращением действия питающей ячейки.

[255] Если фармацевтическая композиция была лиофилизирована, лиофилизированный материал сначала восстанавливают в соответствующей жидкости перед введением. Лيوфилизированный материал можно восстанавливать, например, в бактериостатической воде для инъекций (БВДИ), физиологическом солевом растворе, фосфатно-солевом буфере (ФСБ) или в том самом составе, в котором белок находился перед лиофилизацией.

[256] Композиции согласно данному изобретению можно вводить субъекту в подходящей дозе, которую можно определить, например, с помощью исследований с повышением дозы путем введения

возрастающих доз описанной в данном документе конструкции антитела согласно изобретению, демонстрирующей межвидовую специфичность, отличным от шимпанзе приматам, например, макакам. Как указано выше, описанную в данном документе конструкцию антитела согласно изобретению, демонстрирующую межвидовую специфичность, преимущественно можно использовать в идентичной форме в доклинических исследованиях на отличных от шимпанзе приматах и в качестве лекарственного препарата на людях. Режим дозирования определяется лечащим врачом и клиническими факторами. Как хорошо известно в области медицины, дозировки для любого пациента зависят от многих факторов, включая массу пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное предназначенное для введения соединение, пол, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие одновременно вводимые лекарственные препараты.

[257] Термин «эффективная доза» или «эффективная дозировка» определяется как количество, достаточное для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта. Термин «терапевтически эффективная доза» определяется как количество, достаточное для излечения или по меньшей мере частичного прерывания заболевания и его осложнений у пациента, который уже страдает от заболевания. Количества или дозы, эффективные для этого применения, зависят от предназначенного для лечения патологического состояния (показания), доставляемой конструкции антитела, терапевтического контекста и целей, тяжести заболевания, предыдущей терапии, клинической истории пациента и его ответа на терапевтический агент, пути введения, размера (массы тела, поверхности тела или размера органов) и/или состояния (возраста и общего состояния здоровья) пациента, и общего состояния собственной иммунной системы пациента. Надлежащую дозу можно корректировать в соответствии с решением лечащего врача так, чтобы ее можно было вводить пациенту за один раз или посредством серии введений и с целью получения оптимального терапевтического эффекта.

[258] Типичная дозировка может находиться в диапазоне от около 0,1 мкг/кг до около 30 мг/кг или более, в зависимости от

вышеупомянутых факторов. В конкретных вариантах реализации изобретения дозировка может находиться в диапазоне от 1,0 мкг/кг до около 20 мг/кг, оптимально от 10 мкг/кг до около 10 мг/кг или от 100 мкг/кг до около 5 мг/кг.

[259] Терапевтически эффективное количество конструкции антитела согласно изобретению предпочтительно приводит к снижению тяжести симптомов заболевания, повышению частоты или длительности бессимптомных периодов или предотвращению нарушений или недееспособности вследствие поражения заболеванием. Для лечения вышеописанных заболеваний, коррелирующих с экспрессией ВСМА, терапевтически эффективное количество конструкции антитела согласно изобретению, в данном случае конструкции анти-ВСМА/анти-CD3 антитела, предпочтительно ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80% или по меньшей мере на около 90% по сравнению с не проходящими лечение пациентами. Способность соединения ингибировать рост опухоли можно оценить в животной модели, прогностической в отношении эффективности.

[260] Фармацевтическую композицию можно вводить в виде единственного терапевтического средства или в комбинации в дополнительными вариантами терапии, такими как противораковая терапия, в случае необходимости, например, другими белковыми и небелковыми лекарственными препаратами. Эти лекарственные препараты можно вводить одновременно с композицией, содержащей определенную в данном документе конструкцию антитела согласно изобретению, или отдельно, до или после введения указанной конструкции антитела в определенные временные интервалы и в определенных дозах.

[261] В контексте данного документа термин «эффективная и нетоксичная доза» относится к переносимой дозе конструкции антитела согласно изобретению, которая является достаточно высокой, чтобы приводить к уничтожению патологических клеток, элиминации опухоли, уменьшению размеров опухоли или стабилизации заболевания без или практически без основных токсических

явлений. Такие эффективные и нетоксичные дозы можно определить, например, с помощью исследований с повышением дозы, описанных в данной области техники, и они должны быть ниже дозы, индуцирующей серьезные нежелательные побочные явления (дозолимитирующая токсичность, ДЛТ).

[262] В контексте данного документа термин «токсичность» относится к токсическому действию лекарственного препарата, проявляемому в нежелательных явлениях или серьезных нежелательных явлениях. Эти побочные явления могут относиться к отсутствию переносимости лекарственного препарата в целом и/или отсутствию локальной переносимости после введения. Токсичность также может включать тератогенное или карциногенное действие, вызываемое лекарственным препаратом.

[263] В контексте данного документа термин «безопасность», «in vivo безопасность» или «переносимость» определяет введение лекарственного препарата без индукции серьезных нежелательных явлений непосредственно после введения (локальная переносимость) и на протяжении более длительного периода применения лекарственного препарата. «Безопасность», «in vivo безопасность» или «переносимость» можно оценивать, например, через регулярные интервалы во время лечения и в следующий за ним период. Измерения включают клиническую оценку, например, органные проявления, и исследование лабораторных аномалий. Можно проводить клиническую оценку и записывать/зашифровывать отклонения от нормальных результатов в соответствии со стандартами NCI-CTC и/или MedDRA. Органные проявления могут включать такие критерии, как аллергия/иммунология, кровь/костный мозг, сердечная аритмия, коагуляция и тому подобное, как описано, например, в общих терминологических критериях нежелательных явлений v3.0 (CTCAE). Лабораторные параметры, которые можно исследовать, включают, например, гематологию, клиническую химию, профиль коагуляции и анализ мочи, а также исследование других жидкостей организма, таких как сыворотка, плазма, лимфатическая или спинномозговая жидкость, ликвор и тому подобное. Таким образом, безопасность можно оценить, например, посредством физического осмотра, методов визуализации (т. е.

ультразвукового исследования, рентгеновского исследования, КТ-сканов, магнито-резонансной томографии (МРТ), других измерений с помощью технических устройств (т. е. электрокардиограммы), показателей жизнедеятельности, путем измерения лабораторных параметров и записи нежелательных явлений. Например, нежелательные явления у отличных от шимпанзе приматов в применениях и способах согласно изобретению можно исследовать гистопатологическими и/или гистохимическими способами.

[264] Вышеуказанные термины также перечислены, например, в Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997.

[265] И наконец, в изобретении предложен набор, содержащий конструкцию антитела согласно изобретению или полученную в соответствии со способом согласно изобретению, фармацевтическую композицию согласно изобретению, полинуклеотид согласно изобретению, вектор согласно изобретению и/или клетку-хозяина согласно изобретению.

[266] В контексте данного изобретения термин «набор» означает два или более компонентов, один из которых соответствует конструкции антитела, фармацевтической композиции, вектору или клетке-хозяину согласно изобретению, упакованным вместе в контейнере, приемнике или каким-либо другим образом. Следовательно, набор может быть описан как набор продуктов и/или принадлежностей, достаточный для достижения определенной цели, который может поступать в продажу в виде отдельной единицы.

[267] Набор может содержать один или более приемников (таких как флаконы, ампулы, контейнеры, шприцы, бутылки, пакеты) любой подходящей формы, размера и из любого материала (предпочтительно водонепроницаемого, например, пластика или стекла), содержащих конструкцию антитела или фармацевтическую композицию согласно данному изобретению в подходящей для введения дозировке (смотрите выше). Набор может дополнительно содержать указания по применению (например, в форме вкладыша или инструкции по применению), средства для введения конструкции антитела согласно данному изобретению, такие как шприц, насос,

инфузионное устройство и тому подобное, средства для восстановления конструкции антитела согласно изобретению и/или средства для разведения конструкции антитела согласно изобретению.

[268] В изобретении также предложены наборы для устройства для однократного введения. Набор согласно изобретению также может содержать первый приемник, содержащий высушенную/лиофилизированную конструкцию антитела, и второй приемник, содержащий водную готовую форму. В определенных вариантах реализации данного изобретения предложены наборы, содержащие однокамерные и многокамерные предварительно наполненные шприцы (например, шприцы с жидкостью или шприцы с лиофилизатом).

[269] Следует отметить, что в контексте данного документа формы единственного числа включают множественное число, если иное четко не следует из контекста. Таким образом, например, ссылка на «реагент» включает один или более таких разных реагентов, а ссылка на «способ» включает ссылку на эквивалентные этапы и способы, известные специалистам в данной области техники, которые можно модифицировать или заменить на описанные в данном документе способы.

[270] Если не указано иное, термин «по меньшей мере», предваряющий ряд элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в ряде. Специалисты в данной области техники признают наличие или смогут определить, используя всего лишь рутинные эксперименты, многие эквиваленты конкретным вариантам реализации изобретения, описанным в данном документе. Подразумевается, что такие эквиваленты включены в данное изобретение.

[271] В контексте данного документа термин «и/или» включает значение «и», «или» и «все или любая комбинация элементов, объединяемых указанным термином».

[272] В контексте данного документа термин «около» или «приблизительно» означает в пределах 20%, предпочтительно в пределах 10% и более предпочтительно в пределах 5% заданной величины или диапазона. При этом он включает также конкретное

число, например, около 20 включает 20.

[273] Термины «меньше чем» или «больше чем» включают конкретное число. Например, меньше чем 20 означает меньше или равно. Аналогично, более чем или больше чем означает более или равно или больше или равно соответственно.

[274] В тексте описания и в нижеприведенной формуле изобретения, если иное не следует из контекста, слово «содержать» и его вариации, такие как «содержит» и «содержащий» следует понимать как подразумевающие включение указанного целого числа или этапа или группы целых чисел или этапов, но не исключение любого другого целого числа или этапа или группы целых чисел или этапов. В контексте данного документа термин «содержащий» можно заменить термином «вмещающий» или «включающий» или иногда термином «имеющий».

[275] В контексте данного документа выражение «состоящий из» исключает любой элемент, этап или ингредиент, не указанный в заявляемом элементе. В контексте данного документа выражение «состоящий преимущественно из» не исключает материалы или этапы, которые не оказывают материального влияния на основные и новые характеристики заявляемого предмета.

[276] В каждом случае любой из терминов «содержащий», «состоящий преимущественно из» и «состоящий из» можно заменить любым из оставшихся двух терминов.

[277] Следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными методологиями, протоколами, материалами, реагентами и веществами и т. д., описанными в данном документе, и, следовательно, может варьироваться. Употребляемая в данном документе терминология используется только в целях описания конкретных вариантов реализации, и не подразумевает ограничения данного изобретения, которое определяется исключительно формулой изобретения.

[278] Все публикации и патенты, цитируемые в тексте этого описания (включая все патенты, патентные заявки, научные публикации, спецификации производителей, инструкции и т. д.), выше или ниже, в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки. Ничто в данном документе не следует

воспринимать как признание того, что данное изобретение не имеет права противопоставлять такое описание на основании более раннего изобретения. В тех случаях, когда включенный посредством ссылки материал противоречит или не согласуется с данным описанием, это описание имеет приоритет относительно любого такого материала.

[279] Лучшее понимание данного изобретения и его преимуществ обеспечат следующие примеры, приведенные исключительно в иллюстративных целях. Предполагается, что примеры не ограничивают объем данного изобретения каким-либо образом. Описанные ниже примеры можно проводить аналогично, т. е. следуя таким же протоколам, с другими биспецифическими конструкциями антител в соответствии с изобретением.

[280] Пример 1: Индуцированная ViTE® экспрессия CD69 на Т-клетках в отсутствие клеток-мишеней

Выделенные МКПК от здоровых человеческих доноров культивировали с возрастающими количествами биспецифических HLE-конструкций антител к мишени В/CD3 или мишени А/CD3 в течение 48 ч. Экспрессию маркера активации CD69 на Т-клетках определяли с помощью иммуноокрашивания и проточной цитометрии и антиген-специфических конъюгатов mAb.

Независимую от мишени активацию Т-клеток в контексте повышающей регуляции CD69 наблюдали для всех анти-CDH 19 конструкций, но наиболее выраженной она была для молекул гетеро-Fc и кросстел. Повышение регуляции CD69 scFc-конструкцией против мишени В происходило при более высоких концентрациях, а амплитуда была немного ниже по сравнению с другими конструкциями на основе Fc.

В случае конструкций против мишени А практически не наблюдали независимую от мишени активацию Т-клеток для scFc-содержащей молекулы, тогда как конструкция гетеро-Fc индуцировала сильное повышение регуляции CD69 на клеточной поверхности Т-клеток в отсутствие клеток-мишеней.

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую конструкциями ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc или гетеро-Fc

слияние в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

Конструкции BiTE® (серийные разведения: 0,1 пМ – 2 мкМ)

а. Мишень А-I2C scFc; 1,14 мг/мл;

б. Мишень А гетеро-Fc; 1,02 мг/

Эффекторные клетки – человеческие МПКК (3 донора; #065, #823, #836 (scFc) #401, #415, #433 (гетеро-Fc); #590, #595, 598, #605 (Х-тело)).

Время инкубации – 48 ч.

Определение экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с помощью проточного цитометра и антиген-специфических конъюгатов mAb. Результаты смотрите на Фигуре 2.

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую конструкциями антител BiTE®, содержащими одноцепочечный Fc, гетеро-Fc или слияние кросстела в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

Конструкции BiTE® (серийные разведения: 0,1 пМ – 2 мкМ)

с. Мишень В x I2C-scFc; 245,3 мг/мл (

d. Мишень В гетеро-Fc; 1 мг/мл

е. Мишень В кросстело; 6,3 мг/мл

Эффекторные клетки – человеческие МПКК (от 3 до 4 доноров; #386, #392, #401 (scFc) #282, #284, #287 (гетеро-Fc)).

Время инкубации – 48 ч.

Определение экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с помощью проточного цитометра и антиген-специфических конъюгатов mAb. Результаты смотрите на Фигуре 3.

Независимую от мишени активацию Т-клеток в контексте повышающей регуляции CD69 наблюдали для нескольких биспецифических конструкций, исследуемых в этих анализах. Повышающая регуляция CD69 в общем случае была более выражена для канонических конструкций антител BiTE®, молекул гетеро-Fc и кросстел по сравнению с соответствующими конструкциями scFc. Повышение регуляции CD69 конструкциями scFc происходило в общем случае при более высоких концентрациях, а амплитуда была немного ниже по сравнению с другими двумя конструкциями на основе Fc.

В случае scFc-конструкции против мишени В не наблюдали

независимую от мишени активацию Т-клеток, тогда как конструкции гетеро-Fc и Х-тела индуцировали сильное повышение регуляции CD69 на клеточной поверхности Т-клеток в отсутствие клеток-мишеней.

Кроме того, не наблюдали независимое от клетки-мишени повышение регуляции CD69 в анализе с применением конструкций против мишени С и мишени G. Из-за экспрессии мишени на клетках миелоидной линии дифференцировки эти клетки удаляли перед проведением анализа. Эти данные свидетельствуют о том, что взаимодействие Fc-областей биспецифических конструкций с FcγR-экспрессирующими клетками может отвечать на независимую от мишени индукцию CD69 на Т-клетках.

Сильное повышение регуляции CD69 на Т-клетках scFc-конструкцией против мишени H в отсутствие опухолевых клеток происходит вследствие экспрессии мишени H на Т-клетках.

Материалы и методы

1. Мишень I

Независимая от мишени активация Т-клеток, индуцируемая молекулой ViTE[®], содержащей одноцепочечный Fc, для следующей конструкции:

1. Конструкция антитела ViTE[®] (серийные разведения: 1,3 пМ – 20 нМ)
1. Мишень I-scFc
2. Эффекторные клетки – человеческие МПК (3 донора)
3. Время инкубации – 48 ч
4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4⁺ и CD8⁺ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

2. Мишень D

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулами ViTE[®], содержащими одноцепочечный Fc, гетеро-Fc или слияние кросстела в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

1. Конструкции антител ViTE[®] (серийные разведения: 1,3 пМ – 20 нМ)
1. Мишень D-hetFc (гетеро-Fc)

2. Мишень D-scFc
3. Мишень D-X-тело (Мишень D-кросстело)
2. Эффекторные клетки - человеческие МПКК (3 донора)
3. Время инкубации - 48 ч
4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

3. Мишень С

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулами ViTE[®], содержащими одноцепочечный Fc, гетеро-Fc или слияние кросстела в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

1. Конструкции антител ViTE[®] (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)
 1. Мишень С-каноническая конструкция
 2. Мишень С-scFc
 3. Мишень С-hetFc
 4. Мишень С-X-тело
2. Эффекторные клетки - человеческие МПКК (3 донора)
3. Время инкубации - 48 ч
4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

4. Мишень В

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулами ViTE[®], содержащими одноцепочечный Fc, гетеро-Fc или слияние кросстела в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

1. Конструкции антител ViTE[®] (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)
 1. Мишень В-scFc
 2. Мишень В-hetFc
 3. Мишень В-X-тело
2. Эффекторные клетки - человеческие МПКК (3 донора)
3. Время инкубации - 48 ч

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

5. Мишень А

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулами ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc, гетеро-Fc или слияние кросстела в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

1. Конструкции антител ViTE® (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)

1. Мишень А-scFc

2. Мишень А-hetFc

3. Мишень А-Х-тело

2. Эффекторные клетки - человеческие МКПК (3 донора)

3. Время инкубации - 48 ч

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

6. Мишень F

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулами ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc или гетеро-Fc, оценивали для следующих конструкций:

1. Конструкции антител ViTE® (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)

1. Мишень F-каноническая конструкция

2. Мишень F-scFc

3. Мишень F-hetFc

2. Эффекторные клетки - человеческие МКПК (3 донора)

3. Время инкубации - 48 ч

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

7. Мишень Е

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулами ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc или гетеро-Fc,

оценивали для следующих конструкций:

1. Конструкции антител ViTE® (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)

1. Мишень E-каноническая конструкция

2. Мишень E-scFc

3. Мишень E-hetFc

2. Эффекторные клетки - человеческие МПКК (3 донора)

3. Время инкубации - 48 ч

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

8. Мишень Н

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулой ViTE®, содержащей одноцепочечный Fc, оценивали для следующей конструкции:

1. Конструкция антитела ViTE® (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)

1. Мишень H-scFc

2. Эффекторные клетки - человеческие МПКК (3 донора)

3. Время инкубации - 48 ч

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

9. Мишень G

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую молекулой ViTE®, содержащей одноцепочечный Fc, оценивали для следующей конструкции:

1. Конструкция антитела ViTE® (серийные разведения: 1,3 пМ - 20 нМ)

1. Мишень G-scFc

2. Эффекторные клетки - человеческие МПКК (3 донора; без клеток CD14+/CD33+)

3. Время инкубации - 48 ч

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb,

специфического в отношении CD69.

[281] Пример 2:

Очищенные конструкции антител ViTE® наносили на планшет Maxisorb в снижающейся концентрации (100 нМ, 1:4 разведение). После 3х промывок ФСБ-Т и блокирования ФСБ/3% (масс./об.) БСА (60 мин, 37°C) объединенную человеческую плазму инкубировали в течение 60 мин, при 80 об/мин при комнатной температуре. После 3х промывок добавляли мышинное моноклональное антитело, специфическое в отношении субъединицы А человеческого C1q (CC1q) (Thermo MA1-83963, 1:500) в течение 60 мин, при 80 об/мин при комнатной температуре, после описанных этапов промывки козье антимышиное Fc-POX mAb (1:5,000) инкубировали в течение 60 мин, при 80 об/мин при комнатной температуре. После дополнительной промывки инкубировали ТМБ-субстрат и прекращали после колориметрической реакции путем добавления H₂SO₄. Поглощение определяли на 450 нм.

Результат: Как изображено на фигуре 4, при высоких концентрациях конструкция ViTE® на основе гетеро-Fc (квадраты) демонстрировала более высокие сигналы связывания в отношении человеческого CC1q по сравнению с конструкцией ViTE® на основе одноцепочечного Fc (треугольники). В качестве отрицательного контроля использовали каноническое ViTE® (круги), которое не демонстрировало существенного связывания CC1q.

[282] Пример 3: фармакокинетика конструкций антител ViTE®, слитых с продлевающими время полужизни модалностями

Различные связывающие мишень конструкции антител ViTE® сливали с четырьмя разными продлевающими время полужизни компонентами. Все разные HLE-варианты, доступные для антитела ViTE®, исследовали на яванских макаках в контексте фармакокинетических (ФК) исследований. Их последовательно называли ViTE®-scFc, ViTE®-hetFc, ViTE®-HALB, ViTE®-X-тело в соответствии с продлевающей время полужизни модалностью, присоединенной к связывающей мишень конструкции. Не слитую с HLE молекулу ViTE® называли «каноническим» ViTE®. Соответствующая

номенклатура этих молекул кратко обобщена в Таблице 4 ниже.

Таблица 4 Номенклатура соединений одноклиновых молекул BiTE®

синоним соединения	название исследуемого соединения
Соединение 1a	Мишень C-scFc
Соединение 1b	Мишень C-hetFc
Соединение 1c	Мишень C-HALB
Соединение 2a	Мишень A-scFc
Соединение 2b	Мишень A-hetFc
Соединение 2c	Мишень A-HALB
Соединение 2d	Мишень A-X-тело
Соединение 3a	Мишень B-scFc
Соединение 3b	Мишень B-hetFc
Соединение 3c	Мишень B-HALB
Соединение 3d	Мишень B-H6
Соединение 4a	Мишень D-scFc
Соединение 4b	Мишень D-hetFc
Соединение 5a	Мишень E-scFc
Соединение 5b	Мишень E-hetFc
Соединение 5c	Мишень E-HALB
Соединение 6a	Мишень F-scFc
Соединение 6b	Мишень F-HALB
Соединение 7	Мишень G-scFc
Соединение 8	Мишень H-scFc
Соединение 9	Мишень I cc-scFc
Соединение 10a	BCMA (cc)-scFc
Соединение 10b	BCMA (каноническое BiTE®)

Молекулы BiTE® вводили в виде внутривенной болюсной инъекции

(соединения 1b, 2a-d, 3a/b, 4a/b, 5a-5c, 7-9) и внутривенной инфузии (соединения 1a, 1c, 3c/d, 6a/b, каждое в виде 30-минутной инфузии). Молекулы ViTE® вводили в линейном, фармакокинетически релевантном диапазоне доз, составляющем от 3 мкг/кг до 6 мкг/кг, 12 мкг/кг и 15 мкг/кг, соответственно. Соединение 10a вводили в виде короткой внутривенной болюсной инъекции, каноническую конструкцию (соединение 10b) – в виде непрерывной внутривенной инфузии. Для сравнения фармакокинетических параметров обоих соединений, 10a и 10b, на Фигуре 5 изображена только конечная фаза, начинающаяся непосредственно после завершения инфузии, для канонического ВСМА-ViTE®. Молекулы ВСМА ViTE® вводили в линейном, фармакокинетически релевантном диапазоне доз, составляющем 15 мкг/кг. Для возможности сравнения сывороточные концентрации, приведенные на Фигуре 5, нормализованы относительно дозы и нормализованы относительно молекулярной массы (описываемой в нмолях). В случае каждого из вышеприведенных соединений исследовали группу из по меньшей мере двух-трех животных. Собирали образцы крови и готовили сыворотку для определения сывороточных концентраций. Сывороточные уровни антитела ViTE® определяли с помощью иммуноанализа. Сывороточные уровни ВСМА ViTE® определяли с помощью иммуноанализа, в котором используется пара анти-CD3 идиотипических антител для покрытия и выявления молекул ViTE®. Профили сывороточная концентрация – время использовали для определения ФК-параметров. Соответствующую конфигурацию исследования корректировали относительно характеристик молекул ViTE® с учетом продолжительности в 1 неделю или 2 недели. Моменты сбора образцов крови могут немного варьироваться и приведены для обеих конфигураций в Таблице 5 ниже.

Таблица 5 **Время сбора образцов крови во время ФК-исследования. Время может варьироваться между одиночными исследованиями. Время, обозначенное звездочкой, является обязательным и общепринятым для всех исследований**

время сбора образцов крови для 1-недельной продолжительности исследования [ч]	время сбора образцов крови для 2-недельной продолжительности исследования [ч]	время сбора образцов крови для соединения 10a; [ч] после начала инфузии	время сбора образцов крови для соединения 10b; [ч] после начала инфузии
0,05/0,085*	0,05/0,085*	0,085	
0,25	0,25	0,25	
0,5	0,5	0,5	
1	1	1	
2	2		
4*	4*	4	
8	8	8	
24 16	16		
24*	24*	24	
48*	48*	48	
72*	72*	72	
96	96		
120	120		
144	144		
168*	168*	168	168,00
	216		169,01
	240	240	172,01
	264		175,99
	336*	336	180,00

Фармакокинетика молекул BiTE®-HLE приведена в качестве примера в Таблице 6. Группа каждого из соединений представляет один белок BiTE®, слитый с scFc-, hetFc-, HSA- (человеческим сывороточным альбумином, HALB), или кросстело-Fc-формат, или оставлена в виде канонической молекулы BiTE®. Для всех белков сывороточные уровни подлежали количественной оценке для всех моментов времени у всех животных после введения молекулы BiTE®-. ФК-профили демонстрируют двухфазное, экспоненциальное снижение после введения каждого отдельного исследуемого соединения.

Фармакокинетические параметры определяли, используя стандартные методы некомпартментного анализа (НКА). Используя некомпартментный анализ, оценили следующие ФК-параметры: ППК_{беск.}

(площадь под кривой сывороточная концентрация – время), V_{ss} (объем распределения в стационарном состоянии), CL (системное выведение) и терминальное $t_{1/2}$ (терминальное время полужизни).

ФК-параметры для каждого исследуемого соединения обобщены в виде среднего по $n=2$ и $n=3$ соответственно в Таблице 6 ниже.

Таблица 6 Фармакокинетические параметры различных HLE-вариантов для разных связывающих мишень конструкций BiTE® у яванских макаков.

исследуемое соединение	терминальное $t_{1/2}$ [ч]	ППК _{беск.} Нормализация к 15 мкг/кг [ч*нг/мл]	CL [мл/ч/ кг]	V_{ss} [мл/кг]
Соединение 1a	167	9981	1,4	256
Соединение 1b	95	6159	2,4	235
Соединение 1c	47	4498	3,3	161
Соединение 2a	213	41173	0,4	89
Соединение 2b	116	18745	0,8	78
Соединение 2c	77	28928	1,0	65
Соединение 2d	77	9825	1,5	112
Соединение 3a	61	4109	3,7	129
Соединение 3b	59	4561	3,3	78
Соединение 3c	51	2769	6,8	299
Соединение 3d	3	510	30,0	653
Соединение 4a	97	7816	1,9	181
Соединение 4b	62	3606	4,2	292
Соединение 5a	234	30954	0,5	144
Соединение 5b	173	18299	0,8	166
Соединение 5c	142	26418	0,6	103
Соединение 6a	97	15854	1,0	103

Соединение 6b	48	77271	1,0	64
Соединение 7	64	1971	7,6	395
Соединение 8	122	17093	0,9	119
Соединение 9	210	6729	2,2	540
Соединение 10a	112	18772	0,8	110
Соединение 10b	3	1677	62,6	5268

Как правило, ФК-профиль для канонических молекул ВСМА-BiTE® демонстрирует очень крутое снижение профиля сывороточной концентрации, связанное с механизмом выведения этих канонических белков. Нацеленная на ВСМА конструкция BiTE®-scFc с продленным временем полужизни демонстрирует двухфазное, экспоненциальное снижение после введения каждого отдельного исследуемого соединения у яванских макаков.

В целом, молекула ВСМА-BiTE®, слитая с scFc HLE-модальностью (соединение 10a), демонстрирует среднюю ППК_{беск.}, составляющую 18772 ч*нг/мл, значение системного выведения 0,8 мл/ч/кг, а также соответствующий объем распределения 110 мл/кг. Соединение 10b, каноническое, нацеленное на ВСМА BiTE® без продления времени полужизни демонстрирует быстрое выведение, составляющее 62,6 мл/ч/кг, приводящее к низкой представленности в сыворотке, составляющей 1677 ч*нг/мл.

Разница в фармакокинетическом поведении двух разных исследованных модальностей ВСМА BiTE® всесторонне описывает преимущество нацеленного на ВСМА BiTE®-scFc с продленным временем полужизни над соответствующей канонической версией, в особенности в терминах времени удержания вещества в организме.

В целом, ППК_{беск.} для разных связывающих мишень BiTE®, слитых с -scFc, -hetFc, HAS или модальностью кросстело-HLE, соответственно, находится в диапазоне от 1971 ч*нг/мл до 77271 ч*нг/мл в зависимости от типа мишени BiTE®. Все проанализированные HLE-слияния достигали значений системного выведения от 0,4 до 7,6 мл/ч/кг. Соответствующий объем распределения находился в диапазоне от 68 до 540 мл/кг.

Соединение 3d, каноническое, связывающее мишень соединение 3 BiTE® без продления времени полужизни включено в качестве стандарта. Молекулы BiTE® без продления времени полужизни демонстрируют быстрое выведение, низкую сывороточную представленность и, как следствие, короткое терминальное время полужизни. Сравнение терминального времени полужизни в зависимости от модальности обобщено в Таблице 7.

Таблица 7 Сравнение терминального времени полужизни в зависимости от модальности в исследованиях на яванских макаках.

модальность HLE	терминальное $t_{1/2}$ [ч]
Каноническое BiTE®	3
BiTE®-scFc	61-234
BiTE®-hetFc	48-173
BiTE®-hALB	47-142
BiTE®-кросстело	77

После исследования до четырех продлевающих время полужизни (HLE) компонентов для каждого нацеливающего BiTE®, становится понятно, что компонент -scFc демонстрирует повышение $t_{1/2}$ по сравнению с соответствующими другими продлевающими время полужизни компонентами после введения одной низкой дозы 6, 10, 12 и 15 мкг/кг (смотрите Фигуру 6).

[283] Пример 4:

В предварительно составленных лекарственных веществах, содержащих очищенные конструкции мишень A-hALB, мишень A-hFc и мишень A-scFc соответственно, проводили замену буфера посредством ультрафильтрации/диафильтрации с применением мембран с номинальным отсечением по молекулярной массе (НОММ) 10 кДа. Конечную готовую форму получали путем добавления концентрированных исходных растворов. Полученные в результате готовые формы для каждой конструкции приведены в Таблице 8. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции мишени A наливали до 1 во флаконы из стекла типа I,

которые закрывали бутылкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при 20, 5, 25 и 37°C. Один флакон с каждой версией подвергали пяти циклам замораживания и размораживания (З/Р). Целевая температура замораживания составляла 29°C. Целевая температура размораживания составляла 2°C. Скорость изменения составляла приблизительно 0,3 К/мин.

Подготовленные сотрудники оценивали видимые частицы в соответствии с методом, описанным Ph Eur 2.9.20. Число видимых частиц на флакон приведено в Таблице 8. Число видимых (крупнее 125 мкм) белковых частиц было больше для конструкции мишень А-hFc по сравнению как с конструкцией мишень А-hALB, так и мишень А-scFc.

Таблица 8: Число видимых белковых частиц на флакон для подверженных и не подверженных стрессу (Т0) образцов, содержащих разные конструкции ViTE® против мишени А с продленным временем полужизни.

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Число видимых (>125 мкм) белковых частиц на флакон					
Т0	0	0	1	0	0
5 циклов З/Р	0	2	2	0	1
2н 5°C	0	2	2	0	0
2н 25°C	0	2	1	0	0
2н 37°C	0	2	2	0	0
4н -20°C	0	2	1	0	0
4н 5°C	0	1	2	0	0
4н 25°C	0	2	2	0	0
4н 37°C	0	2	2	0	0

Вышеописанные образцы также анализировали методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание

высокомолекулярных компонентов (ВМК). ЭХ-УЭЖХ проводили на УЭЖХ-системе AcquityH-Class (Waters), используя 150 мм колонку Acquity UPLC BEH200 SEC (Waters). Температура колонки была установлена на 25°C. Разделение размерных вариантов обеспечивали применением изократического метода со скоростью потока 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из 100 mM фосфата натрия, 250 mM NaCl при pH 6,8. Время анализа составляло в целом 6,0 минут. Образцы держали при 8°C в автодозаторе до проведения анализа. Вводили общее количество белка 3 мкг. Чтобы избежать загрязнения после каждого образца проводили промежуточную инъекцию 40% ацетонитрила. Выявление базировалось на флуоресцентной эмиссии (возбуждение на 280 нм, эмиссия на 325 нм). Интегрирование пиков проводили с помощью программного обеспечения Empower®. Относительная площадь под кривой ВМК представлена в Таблице 9.

Конструкции на основе Fc демонстрировали более низкое содержание ВМК в варианте готовой формы G40MSuT, чем в K60RTrT, независимо от стрессовых условий. Стало очевидно, что конструкция мишень A-scFc содержала меньше ВМК, чем мишень A-hFc в обоих препаратах G40MSuT, а также K60RTrT. Мишень A-scFc в своей предпочтительной готовой форме (G40MSuT) была менее предрасположена к образованию ВМК, чем мишень A-hALB, приготовленная в K60RTrT. В предыдущих экспериментах этот буфер демонстрировал улучшенный стабилизирующий потенциал для конструкций на основе hALB.

Таблица 9: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень A hALB, hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК					
T0	1,8	6,7	3,3	2,5	1,3
5 циклов З/Р	2,0	7,2	4,1	3,0	1,5
2н 5°C	н. и.	н. и.	н. и.	2,9	1,1

2н 25°C	н. и.	6,6	2,7	2,4	0,5
2н 37°C	2,6	6,3	2,1	2,7	0,3
4н -20°C	5,9	8,7	1,6	6,6	0,3
4н 5°C	2,0	8,2	2,8	3,6	0,6
4н 25°C	2,2	6,8	2,6	2,7	0,4
4н 37°C	3,5	7,6	1,9	4,3	0,3

н. и.=не исследовано

Распространенность химических модификаций после теплового стресса (инкубации при 37°C) отслеживали с помощью пептидного картирования. Образцы белка ферментативно расщепляли, а полученные в результате пептиды разделяли, используя обращенно-фазовую хроматографию. Элжат из колонки вводили непосредственно в источник ионов масс-спектрометра для идентификации и количественного определения пептидов.

Для достижения максимального покрытия проводили два отдельных ферментативных расщепления: одно трипсином, а одно химотрипсином. В каждом случае белки денатурировали гуанидиний хлоридом, а затем восстанавливали дитиотреитолом (ДТТ). После инкубации в ДТТ свободные цистеиновые остатки алкилировали путем добавления йодоуксусной кислоты. Затем для образцов проводили замену буфера на 50 мМ Трис, pH 7,8, для расщепления. Трипсин и химотрипсин добавляли в отдельные реакционные пробирки в соотношении 1:10 (образец:фермент) каждого. Расщепление образцов проводили в течение 30 мин при 37°C и гасили реакцию добавлением трифторуксусной кислоты.

5 мкг каждого продукта расщепления отдельно вводили в обращенно-фазовую колонку Zorbax SB-C18 (Agilent #859700-902), уравновешенную в 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты (МК). Применяли 156-минутный градиент из до 90% ацетонитрила, содержащего 0,1% МК, для элюирования пептидов непосредственно в источник ионов для электрораспыления масс-спектрометра Q-Exactive Plus (Thermo Scientific). Данные получали в зависимом от данных режиме, используя метод топ-12, в котором за полным сканированием (разрешение 70 000; диапазон сканирования 200 2000

m/z) следует индуцируемая высокоэнергетическим соударением диссоциация (HCD) 12 наиболее распространенных ионов (разрешение 17 500).

Пептиды идентифицировали на основании точных масс- и tandemных масс-спектров, используя внутрилабораторное программное обеспечение. Результаты идентификации подтверждали вручную. Относительные количества модифицированных и немодифицированных пептидов рассчитывали на основании распространенности ионов, используя программное обеспечение Pinpoint (Thermo Scientific).

Процентное содержание химических модификаций определяющих комплементарность областей (CDR) и продлевающей время полужизни части (hALB или Fc), определенное в препаратах мишень A-hALB, -hFc и -scFc, приведено в Таблице 10. При сравнении аналогичных условий приготовления становится очевидно, что в целом химические модификации были наименее распространены в scFc-конструкциях.

Таблица 10: Обобщенная информация по химическим модификациям в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень A-hALB, -hFc и -scFc, определенным с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%N101 деамидирования (CDR)					
T0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
2н 37°C	0,7	0,8	3,0	0,7	3,2
4н 37°C	1,3	н. и.	8,5	н. и.	6,4
%N162 деамидирования (CDR)					
T0	3,0	1,7	1,9	2,3	2,5
2н 37°C	15,9	11,6	2,7	15,0	3,3
4н 37°C	26,8	н. и.	3,7	н. и.	4,1
%M279 окисления (CDR)					
T0	0,6	1,4	1,6	0,6	1,0

2н 37°C	1,2	0,8	0,8	0,6	1,0
4н 37°C	0,9	н. и.	0,8	н. и.	0,6
%N348 деамидирования (CDR)					
T0	0,5	3,2	3,3	0,5	0,9
2н 37°C	20,5	21,6	1,9	9,4	1,3
4н 37°C	22,8	н. и.	2,0	н. и.	2,9
%N351 деамидирования (CDR)					
T0	0,2	2,9	2,6	0,5	1,0
2н 37°C	6,6	12,7	0,9	3,8	0,4
4н 37°C	8,7	н. и.	0,8	н. и.	0,8
%M530 окисления (Fc)					
T0	н. п.	3,9	4,1	2,6	3,2
2н 37°C	н. п.	9,0	3,1	4,0	4,3
4н 37°C	н. п.	н. и.	3,4	н. и.	3,5
%N603 деамидирования (Fc)					
T0	н. п.	1,3	1,9	1,3	1,4
2н 37°C	н. п.	7,9	4,6	7,0	5,6
4н 37°C	н. п.	н. и.	6,9	н. и.	8,1
%M706 окисления (Fc)					
T0	н. п.	3,2	3,6	1,5	2,1
2н 37°C	н. п.	6,0	2,8	2,1	2,5
4н 37°C	н. п.	н. и.	2,6	н. и.	2,0
%M587 окисления (hALB)					
T0	1,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
2н 37°C	2,2	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	2,3	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M623 окисления (hALB)					
T0	1,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
2н 37°C	2,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	3,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M798 окисления (hALB)					
T0	1,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

2н 37°C	3,3	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	3,5	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M829 окисления (hALB)					
T0	8,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
2н 37°C	42,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	44,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

н. п.=не применимо; н. и.=не исследовано

[284] Пример 5:

Конструкции мишень A-hALB, -hFc, -scFc, приготовленные так, как описано в Примере 4, подвергали эксперименту со скачком pH. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. В стеклянный флакон наливали объем 0,38 мл каждого стартового материала. После предварительного кондиционирования при 37°C растворы разбавляли 20-кратным объемом фосфатно-солевого буфера (ФСБ), который состоял из 0,090 М фосфата калия, 0,480 М фосфата натрия (оба двухосновные), 0,052 М хлорида калия и 2,76 М NaCl. Разбавленные образцы инкубировали при 37°C в течение двух недель. После инкубации их анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ, используя метод, описанный в Примере 4, а процентное содержание ВМК приведено в Таблице 11. При сравнении всех конструкций, приготовленных в K60RTrT, содержание ВМК возрастало в следующем порядке: hALB < scFc < hFc. Конструкция мишень A-scFc также демонстрировала более низкое содержание ВМК, чем мишень A-hFc при приготовлении в G40MSuT.

Таблица 11: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах мишень A-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК					
2н 37°C	1,5	8,3	7,1	5,4	5,1

[285] Пример 6:

Конструкции мишень A-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные

так, как описано в Примере 4, подвергали стрессу, вызываемому встряской. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. Объем 0,5 мл каждого раствора фильтровали через соответствующий 0,22 мкм фильтр и наливали во флаконы из стекла Зсс. Флаконы помещали в пластиковую коробку, убедившись, что флаконы не смещаются внутри коробки во время встряски. Коробку помещали на орбитальный встряхиватель. Образцы встряхивали при 500 об/мин в течение 65 часов. Видимые частицы оценивали в соответствии с методом, описанным Ph Eur 2.9.20. Этот метод осуществляли подготовленные сотрудники. Число видимых частиц на флакон приведено в Таблице 12. Видимые белковые частицы наблюдали только в препаратах мишень А-hFc.

Таблица 12: Число видимых белковых частиц на флакон в подверженных встряске образцах

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Число видимых (>125 мкм) белковых частиц на флакон					
65 ч, 500 об/мин	0	1	1	0	0

Вышеуказанные образцы также анализировали методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). Применяли тот же метод, который описан в Примере 4. Содержание ВМК в образцах после встряски приведено в Таблице 13. Образование ВМК было наиболее выражено для конструкции мишень А-hFc при сравнении препаратов K60RTrT. ВМК были больше распространены в случае конструкции мишень А-hFc, чем мишень А-scFc.

Таблица 13: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT

%ВМК					
65 ч, 500 об/мин	1,8	5,8	2,4	1,8	0,3

[286] Пример 7:

Конструкции мишень A-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в Примере 4, подвергали воздействию видимого и УФА-света (фотостресс). Во всех препаратах общая концентрация белка составляла 1 мг/мл. Белковые растворы фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и наливали в 0,5 мл флаконы из стекла типа I. Конструкции мишень A-hALB и -scFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света и 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² соответственно. Конструкцию мишень A-hFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света без УФА-света и 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м² УФА-света соответственно. Температуру в камере устанавливали на 25°C. После воздействия света образцы анализировали путем визуального осмотра (Таблица 14), ЭХ-УЭЖХ (Таблица 15) и пептидного картирования (Таблица 16). Вышеуказанные методы осуществляли в соответствии с процедурами, описанными в Примере 4. Хотя конструкции мишень A-hALB и -scFc подвергали воздействию более высоких доз УФА-света, видимых белковых частиц не наблюдали, тогда как образцы мишень A-hFc демонстрировали по одной видимой белковой частице на флакон в обоих испытаниях, независимо от приготовления.

Таблица 14: Обобщенная информация по числу видимых белковых частиц на флакон в препаратах мишень A-hALB, -hFc и -scFc, определенному после воздействия света

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Число видимых (>125 мкм) белковых частиц на флакон					
T0	0	0	1	0	0
Испытание 1	0 ¹⁾	1 ²⁾	1 ²⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾
Испытание 2	0 ³⁾	1 ⁴⁾	1 ⁴⁾	0 ³⁾	0 ³⁾

¹⁾ 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²⁾ 0,2 Млк

видимого света без УФА-света, ³⁾ 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴⁾ 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

Количество ВМК возрастало в следующем порядке: мишень А-hALB < -scFc < -hFc, когда белок был приготовлен в K60RTrT. Количество ВМК могло быть снижено для конструкций на основе Fc при приготовлении в G40MSuT. При этом ВМК снова были менее выражены для конструкции мишень А-scFc. Оказалось, что конструкция мишень А-hFc в особенности чувствительна к воздействию УФА-света.

Таблица 15: Обобщенная информация по содержанию ВМК в препаратах мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенному после воздействия света с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК					
T0	1,8	6,7	3,3	2,5	1,3
Испытание 1	1,8 ¹⁾	6,3 ²⁾	2,5 ²⁾	2,1 ¹⁾	0,4 ¹⁾
Испытание 2	2,0 ³⁾	11,0 ⁴⁾	2,1 ⁴⁾	2,4 ³⁾	0,3 ³⁾

¹⁾ 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²⁾ 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³⁾ 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴⁾ 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

Процентное содержание химических модификаций определяющих комплементарность областей (CDR) и продлевающей время полужизни части (hALB или Fc), определенное в препаратах мишень А-hALB, -hFc и -scFc, приведено в Таблице 16. При сравнении аналогичных условий приготовления становится очевидно, что в целом химические модификации были наименее распространены в scFc-конструкциях.

Таблица 16: Обобщенная информация по химическим модификациям в препаратах мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенным после воздействия света с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MS

форма					uT
%N101 деамидирования (CDR)					
T0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
Испытание 1	0,2 ¹⁾	н. и.	0,3 ²⁾	н. и.	0,5 ¹⁾
Испытание 2	0,2 ³⁾	н. и.	0,6 ⁴⁾	н. и.	0,7 ³⁾
%N162 деамидирования (CDR)					
T0	3,0	1,7	1,9	2,3	2,5
Испытание 1	3,0 ¹⁾	н. и.	2,1 ²⁾	н. и.	2,7 ¹⁾
Испытание 2	3,6 ³⁾	н. и.	3,1 ⁴⁾	н. и.	2,8 ³⁾
%M279 окисления (CDR)					
T0	0,6	1,4	1,6	0,6	1,0
Испытание 1	0,8 ¹⁾	н. и.	2,6 ²⁾	н. и.	0,6 ¹⁾
Испытание 2	1,0 ³⁾	н. и.	6,3 ⁴⁾	н. и.	0,7 ³⁾
%N348 деамидирования (CDR)					
T0	0,5	3,2	3,3	0,5	0,9
Испытание 1	0,4 ¹⁾	н. и.	2,7 ²⁾	н. и.	0,2 ¹⁾
Испытание 2	0,9 ³⁾	н. и.	3,9 ⁴⁾	н. и.	0,2 ³⁾
%N351 деамидирования (CDR)					
T0	0,2	2,9	2,6	0,5	1,0
Испытание 1	0,4 ¹⁾	н. и.	2,0 ²⁾	н. и.	0,3 ¹⁾
Испытание 2	0,5 ³⁾	н. и.	2,6 ⁴⁾	н. и.	0,3 ³⁾
%M530 окисления (Fc)					
T0	н. п.	3,9	4,1	2,6	3,2
Испытание 1	н. п.	н. и.	7,6 ²⁾	н. и.	3,1 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. и.	21,8 ⁴⁾	н. и.	4,1 ³⁾
%M706 окисления (Fc)					
T0	н. п.	3,2	3,6	1,5	2,1
Испытание 1	н. п.	н. и.	6,5 ²⁾	н. и.	1,8 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. и.	17,8 ⁴⁾	н. и.	2,7 ³⁾
%M587 окисления (hALB)					
T0	1,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	1,5	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	2,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M623 окисления (hALB)					

T0	1,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	4,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	4,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M798 окисления (hALB)					
T0	1,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	2,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	3,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M829 окисления (hALB)					
T0	8,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	31,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	25,2	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

н. п.=не применимо; н. и.=не исследовано

[287] Пример 8:

Конструкцию мишень A-hALB готовили в K60RTrT, а конструкцию мишень A-scFc готовили в G40MSuT в соответствии с процедурой, описанной в Примере 4. Общая концентрация белка составляла 0,05 мг/мл. Стеклянные (боросиликат, тип I, 13 мм 3сс флакон от West, арт. № 68000375) и полипропиленовые контейнеры для испытаний (2 мл с O-кольцом, например, от Sarstedt, арт. № 72.694.005) наполняли 500 мкл исследуемого раствора. Исследуемый раствор оставляли на пять минут в первом контейнере для испытаний. Затем отбирали 150 мкл аликвоту для анализа. Оставшийся исследуемый раствор (350 мкл) последовательно переносили из одного контейнера для испытаний в следующий (всего пять контейнеров). В каждом флаконе раствор оставляли на пять минут перед следующим переносом. На каждом этапе переноса использовали один и тот же наконечник для пипетки. Такое же испытание проводили, используя 30 мл поликарбонатные бутылки (Nalgene, PCS-000295 с крышкой, PP/20-415/ZTRE). В случае этого типа контейнера первый контейнер наполняли 5 мл. После отбора 150 мкл аликвоты оставшийся объем переносили из одного контейнера для испытаний в следующий (в соответствии с процедурой, описанной выше). Образцы, полученные из контейнера #1 и #5 анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ (методом, аналогичным описанному в Примере 4). Дополнительно проводили выявление белка с помощью детектора с ФДМ (280 нм), чтобы

определить концентрацию белков. Процентное восстановление белка из каждого контейнера для испытаний приведено в Таблице 17. Было показано, что восстановление белка было более выражено для конструкции мишень A-scFc, чем для конструкции мишень A-hALB, независимо от типа контейнера.

Таблица 17: Восстановление белка из разных типов контейнеров для конструкций мишень A-hALB и -scFc, определенное с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	scFc
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT
% Восстановления белка (от номинального)		
Стекло типа I	80,0	92,0
Полипропилен	87,0	97,3
Поликарбонат	87,0	96,0

[288] Пример 9:

[289] Конструкцию мишень A-hALB готовили в K60RTrT, а конструкцию мишень A-scFc готовили в K60RTrT и G40MSuT в соответствии с процедурой, описанной в Примере 4. Общая концентрация белка составляла 1,0 мг/мл. 1950 мкл каждого исследуемого раствора дополняли 50 мкл 1000 м. д. кремниевого стандартного раствора (Specpure from AlfaAesar, Арт. № 38717), что приводило к получению 25 м. д. дополненного образца. Не дополненный исследуемый раствор служил в качестве контрольного образца. Дополненный исследуемый раствор с добавкой, а также контрольный образец наливали в 3сс флаконы из стекла типа I и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Все образцы анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в Примере 4, чтобы оценить количества ВМК (Таблица 18). При приготовлении в K60RTrT, конструкции мишень A-hALB и -scFc демонстрировали аналогичное повышение числа ВМК после добавления кремния.

Таблица 18: Обобщенная информация по содержанию ВМК в препаратах мишень A-hALB и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ после дополнения 25 м. д. кремния

Конструкция	hALB	scFc
-------------	------	------

Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT
Δ %ВМК (по сравнению с не дополненным контролем)			
25 м. д. дополнение	1,0	1,0	0,2

[290] Пример 10:

В предварительно составленных лекарственных веществах, содержащих очищенные конструкции мишень С (сс)-hALB, мишень С (сс)-hFc и мишень С (сс)-scFc соответственно, проводили замену буфера посредством ультрафильтрации/диафильтрации с применением мембран с номинальным отсечением по молекулярной массе (НОММ) 10 кДа. Конечную готовую форму получали путем добавления концентрированных исходных растворов. Полученные в результате готовые формы для каждой конструкции приведены в Таблице 19. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции мишень С (сс)- наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутылкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при -20, 5, 25 и 37°C. Один флакон с каждой версией подвергали пяти циклам замораживания и размораживания (З/Р). Целевая температура замораживания составляла -29°C. Целевая температура размораживания составляла 2°C. Скорость изменения составляла приблизительно 0,3 К/мин. Вышеописанные образцы также анализировали методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). ЭХ-УЭЖХ проводили в соответствии с методом, описанным в Примере 4. При приготовлении в K60RTrT количество ВМК в не подвергавшихся стрессу образцах возрастало в следующем порядке: scFc < hALB < hFc. Наименее выраженное повышение количества ВМК после стресса, связанного с замораживанием и размораживанием, наблюдали для scFc-конструкции. hFc-конструкция оказалась наиболее предрасположенной к образованию ВМК при 20°C. Содержание ВМК повышалось после четырех недель хранения при 5°C. Образование ВМК в этих условиях было более выраженным для конструкций на основе Fc, чем для конструкций на основе альбумина. В K60RTrT не

наблюдали существенного повышения количества ВМК при повышенных температурах хранения (25 и 37°C). При приготовлении в G40MSuT все конструкции продемонстрировали сходное содержание ВМК в не подвергавшихся стрессу образцах. Повышение во время замораживания и размораживания больше отличалось в случае конструкций на основе Fc, если сравнивать с конструкциями на основе альбумина. В G40MSuT hFc-конструкция была наименее стабильной при хранении при 20°C. Значительное повышение количества ВМК при хранении в жидком виде наблюдали только для hALB-конструкции.

Таблица 19: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень С (сс) -hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК						
T0	1,5	0,3	2,7	0,3	1,3	0,3
5 циклов З/Р	2,0	0,5	3,1	0,7	1,6	0,7
2н - 20°C	н. и.	н. и.	н. и.	н. и.	1,5	0,5
2н 5°C	н. и.	н. и.	н. и.	н. и.	1,8	0,2
2н 25°C	1,7	0,6	2,3	0,2	1,3	0,2
2н 37°C	1,9	0,7	1,8	0,2	1,2	0,2
4н - 20°C	1,6	0,4	4,2	1,5	1,7	0,9
4н 5°C	1,9	0,3	3,3	0,3	2,1	0,4
4н 25°C	1,4	0,6	2,2	0,2	1,4	0,4
4н 37°C	1,3	0,7	2,0	0,1	1,4	0,3

н. и.=не исследовано

Распространенность химических модификаций после теплового

стресса (инкубации при 37°C) отслеживали с помощью пептидного картирования в соответствии с методом, описанным в Примере 4. Процентное содержание химических модификаций определяющих комплементарность областей (CDR), определенное в препаратах мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, приведено в Таблице 20. В целом, конструкции мишень С (сс)-scFc демонстрировали наименьшее количество химических модификаций в CDR. Стало очевидным, что в особенности деамидирование в CDR было наименее выраженным для scFc-конструкции.

Таблица 20: Обобщенная информация по химическим модификациям в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, определенным с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%M34 окисления (CDR)						
T0	1,0	1,8	1,0	1,4	1,7	1,9
2н 37°C	0,9	1,3	0,9	1,1	1,0	1,7
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	1,6	н. и.	1,8
%D103 изомеризации (CDR)						
T0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
2н 37°C	4,0	4,6	4,5	4,4	5,8	7,3
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	8,0	н. и.	12,4
%M290 окисления (CDR)						
T0	0,7	1,4	0,8	1	1,3	1,4
2н 37°C	0,7	1,0	0,8	0,8	0,8	1,3
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	1,2	н. и.	1,6
%N359 деамидирования (CDR)						
T0	5,8	11,4	5,3	6,3	0,4	0,5
2н 37°C	19,3	5,8	11,2	2,8	7,0	0,9
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	2,9	н. и.	2,2
%N362 деамидирования (CDR)						
T0	5,4	8,7	3,9	4,0	0,2	0,3

2н 37°C	13,5	3,6	6,7	1,2	3,1	0,3
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	1,4	н. и.	0,7

н. п.=не применимо; н. и.=не исследовано

[291] Пример 11:

Конструкции мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в Примере 4, подвергали эксперименту со скачком pH. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. В стеклянный флакон наливали объем 0,38 мл каждого стартового материала. После предварительного кондиционирования при 37°C растворы дополняли 20-кратным объемом фосфатно-солевого буфера (ФСБ), который состоял из 0,090 М фосфата калия, 0,480 М фосфата натрия (оба двухосновные), 0,052 М хлорида калия и 2,76 М NaCl. Разбавленные образцы инкубировали при 37°C в течение двух недель. После инкубации их анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ, используя метод, описанный в Примере 4, а процентное содержание ВМК приведено в Таблице 21. Конструкции мишень С (сс)-scFc демонстрировали наименьшее содержание ВМК после скачка pH по сравнению с конструкциями мишень С (сс)-hALB и -hFc, независимо от приготовления.

Таблица 21: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	Готовая форма					
	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК						
2н 37°C	1,7	4,8	1,6	1,8	1,1	1,5

[292] Пример 12:

Конструкции мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в Примере 4, подвергали стрессу, вызываемому встряской. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. Объем 0,5 мл каждого раствора фильтровали через соответствующий 0,22 мкм фильтр и наливали в 3сс флаконы из стекла типа I. Флаконы помещали в пластиковую коробку,

убедившись, что флаконы не смещаются внутри коробки во время встряски. Коробку помещали на орбитальный встряхиватель. Образцы встряхивали при 500 об/мин в течение 65 часов. Образцы анализировали методом ЭХ-УЭЖХ, чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). Применяли тот же метод, который описан в Примере 4. Содержание ВМК в образцах после встряски приведено в Таблице 22. Образование ВМК было наименее выражено для конструкции мишень С (сс)-scFc в любой готовой форме.

Таблица 22: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК						
65 ч, 500 об/мин	2,1	0,8	2,3	0,4	1,3	0,2

[293] Пример 13:

Конструкции мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в Примере 4, подвергали воздействию видимого и УФА-света (фотостресс). Во всех препаратах общая концентрация белка составляла 1 мг/мл. Белковые растворы фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и наливали в 0,5 мл стеклянные флаконы типа I. Конструкции мишень С (сс)-hALB и -scFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света и 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² соответственно. Конструкцию мишень С (сс)-hFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света без УФА-света и 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м² УФА-света соответственно. Температуру в камере устанавливали на 25°C. После воздействия света образцы анализировали методом ЭХ-УЭЖХ (Таблица 23) и пептидного картирования (Таблица 24).

Вышеуказанные методы осуществляли в соответствии с процедурами, описанными в Примере 4. Несмотря на более высокую интенсивность УФА-света, применяемую к конструкции мишень С (сс)-scFc, эта конструкция была стабильной против образования ВМК. В противоположность этому, конструкции мишень С (сс)-hFc и мишень С (сс)-hALB демонстрировали повышение количества ВМК после 2 условий испытаний.

Таблица 23: Обобщенная информация по содержанию ВМК в препаратах мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, определенному после воздействия света с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК						
T0	1,5	0,3	2,7	0,3	1,3	0,3
Испытание 1	1.8 ¹	0.3 ¹	2.5 ²	0.3 ²	1.4 ¹	0.3 ¹
Испытание 2	4,6 ³	1,1 ³	6,0 ⁴	0,7 ⁴	1,5 ³	0,3 ³

¹) 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²) 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³) 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴) 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

В целом, химические модификации после воздействия света были наименее выражены для конструкции мишень С (сс)-scFc. В особенности деамидирование CDR в большей степени проявлялось в конструкциях мишень С (сс)-hALB и мишень С (сс)-hFc. По сравнению с конструкциями на основе Fc было обнаружено, что конструкция мишень С (сс)-scFc была менее предрасположена к химическим модификациям Fc-части, хотя scFc-конструкцию подвергали более высоким дозам УФА-света, чем hFc-конструкцию. В Таблице 24 также перечислены наиболее распространенные химические модификации альбуминовой части в конструкции мишень С (сс)-hALB, демонстрируя, что продлевающая время полужизни часть этой конструкции была более химически деградирована, чем Fc-

части конструкции мишень С (cc)-hFc и -scFc.

Таблица 24: Обобщенная информация по химическим модификациям в препаратах мишень С (cc)-hALB, -hFc и -scFc, определенным после воздействия света с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%M34 окисления (CDR)						
T0	1,0	1,8	1,0	1,4	1,7	1,9
Испытание 1	1,5 ¹⁾	н. и.	0,7 ²⁾	4,2 ²⁾	1,4 ¹⁾	1,2 ¹⁾
Испытание 2	1,7 ³⁾	н. и.	1,1 ⁴⁾	4,2 ⁴⁾	1,3 ³⁾	1,7 ³⁾
%D103 изомеризации (CDR)						
T0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
Испытание 1	0,8 ¹⁾	н. и.	0,9 ²⁾	0,9 ²⁾	0,8 ¹⁾	1,0 ¹⁾
Испытание 2	1,1 ³⁾	н. и.	1,2 ⁴⁾	1,4 ⁴⁾	1,0 ³⁾	1,3 ³⁾
%M290 окисления (CDR)						
T0	0,7	1,4	0,8	1	1,3	1,4
Испытание 1	1,1 ¹⁾	н. и.	0,5 ²⁾	3,3 ²⁾	1,0 ¹⁾	0,9 ¹⁾
Испытание 2	1,4 ³⁾	н. и.	1,1 ⁴⁾	4,2 ⁴⁾	1,0 ³⁾	1,4 ³⁾
%N359 деамидирования (CDR)						
T0	5,8	11,4	5,3	6,3	0,4	0,5
Испытание 1	10,8 ¹⁾	н. и.	4,5 ²⁾	5,6 ²⁾	0,4 ¹⁾	0,2 ¹⁾
Испытание 2	12,4 ³⁾	н. и.	10,3 ⁴⁾	3,6 ⁴⁾	0,6 ³⁾	0,2 ³⁾
%N362 деамидирования (CDR)						
T0	5,4	8,7	3,9	4,0	0,2	0,3
Испытание 1	8,8 ¹⁾	н. и.	3,4 ²⁾	3,5 ²⁾	0,3 ¹⁾	0,3 ¹⁾
Испытание 2	9,8 ³⁾	н. и.	6,4 ⁴⁾	2,3 ⁴⁾	0,5 ³⁾	0,3 ³⁾
%D510 изомеризации (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	0,4	0,4	0,5	0,4
Испытание 1	н. п.	н. п.	0,4 ²⁾	0,6 ²⁾	0,6 ¹⁾	0,5 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	0,7 ⁴⁾	0,7 ⁴⁾	0,7 ³⁾	0,7 ³⁾
%M541 окисления (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	2,8	3	3,7	4,1

Испытание 1	н. п.	н. п.	5,0 ²⁾	0,7 ²⁾	3,8 ¹⁾	3,8 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	17,5 ⁴⁾	18,4 ⁴⁾	4,8 ³⁾	5,5 ³⁾
%N614 деамидирования (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	1,2	1,2	1,6	1,5
Испытание 1	н. п.	н. п.	1,3 ²⁾	1,7 ²⁾	2,8 ¹⁾	2,2 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	6,1 ⁴⁾	1,9 ⁴⁾	1,9 ³⁾	2,3 ³⁾
%N673 деамидирования (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	0,3	0,3	0,0	0,0
Испытание 1	н. п.	н. п.	0,5 ²⁾	0,6 ²⁾	0,5 ¹⁾	0,6 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	0,5 ⁴⁾	0,6 ⁴⁾	0,5 ³⁾	1,5 ³⁾
%M717 окисления (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	2,1	2,4	2,5	2,8
Испытание 1	н. п.	н. п.	4,1 ²⁾	7,3 ²⁾	2,2 ¹⁾	2,3 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	13,7 ⁴⁾	13,5 ⁴⁾	2,8 ³⁾	3,8 ³⁾
%M598 окисления (hALB)						
T0	1,0	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	2,3 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	6,4 ³⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M809 окисления (hALB)						
T0	1,8	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	3,5 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	8,3 ³⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%M840 окисления (hALB)						
T0	12,8	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	32,0 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	61,7	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%K1036 гликирования (hALB)						
T0	10,1	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	10,2 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	9,9 ³⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

¹⁾ 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²⁾ 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³⁾ 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴⁾ 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

[294] Пример 14

Исследовали разные конструкции антител BiTE®,

сконструированные для нацеливания на мишень F, включая мишень F без продления времени полужизни (не-HLE, каноническую), мишень F-hALB и мишень F-scFc. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл для hALB и scFc и 0,4 мг/мл для не-HLE версии. Приготовленные конструкции антител BiTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутилкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при -20°C и 37°C (без и с 25 м. д. кремния, который известен своим потенциалом индуцировать агрегацию белков) в течение 4 недель. Вышеуказанные конструкции также подвергали воздействию света (1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² УФА-света). В случае стресса, вызванного светом, температуру в камере устанавливали на 25°C. Образцы, хранимые при -70°C, служили в качестве контроля (T0).

Вышеописанные образцы анализировали в дубликатах методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). ЭХ-УЭЖХ проводили на УЭЖХ-системе Aquity H-Class (Waters), используя 150 мм колонку Acquity UPLC BEH200 SEC (Waters). Температура колонки была установлена на 25°C. Разделение размерных вариантов обеспечивали применением изократического метода со скоростью потока 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из 100 mM фосфата натрия, 250 mM NaCl, pH 6,8. Время анализа составляло в целом 6,0 минут. Образцы держали при 8°C в автодозаторе до проведения анализа. Вводили общее количество белка 3 мкг. Чтобы избежать загрязнения после каждого образца проводили промежуточную инъекцию 40% АЦН. Выявление базировалось на флуоресценции (возбуждение на 280 нм, эмиссия на 325 нм). Интегрирование пиков проводили с помощью программного обеспечения Empower®. Представлена относительная площадь под кривой ВМК (Таблица 25).

Среди не подверженных стрессу образцов ВМК были наименее выражены для scFc-конструкции. Образование ВМК наблюдали исключительно во время 4-недельного хранения при -20°C. Содержание ВМК в этих условиях возрастало в следующем порядке

scFc < hALB < ne-HLE.

Таблица 25: Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень F-ne-HLE, -hALB и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ.

Конструкция	Ne-HLE (каноническая)	hALB	scFc
T0	1,3%	1,3%	1,0%
4н -20°C	4,6%	1,8%	1,6%
4н 37°C	0,9%	0,6%	0,5%
4н 37°C (25 м. д. кремния)	1,1%	0,8%	0,8%
Воздействие света	1,0%	0,9%	0,5%

В дополнение образцы после теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния оценивали в отношении наличия невидимых невооруженным глазом частиц методом микрофлюидной визуализации (МФВ), используя Flowcam от Fluid Imaging Technologies, Inc. Прибор был оборудован проточной ячейкой FC80FV. Применяли десятикратное оптическое увеличение. Применимость системы подтверждали с помощью не содержащей частиц воды. Применяли скорость автоматического получения изображений 20 кадров в секунду. Теневое и световое пороговые значения были установлены на 25 и 20 пикселей соответственно. Общий объем образца для одного измерения составлял 0,25 мл. Измерения образцов проводили в трипликатах. Перед каждым трипликатом систему промывали 0,5 мл соответствующих растворов образцов. В начале и между каждым из трипликатов проводили промывку 1,0 мл не содержащей частиц воды. Оценку данных проводили с помощью программного обеспечения Visual Spreadsheet. Измерения образцов проводили в трипликатах. Результаты приведены в Таблице 26.

Тепловой стресс приводил к образованию невидимых невооруженным глазом частиц в препаратах, содержащих конструкции

не-HLE и hALB. scFc-конструкция, наоборот, оставалась стабильной. Добавление кремния не стимулировало образование невидимых невооруженным глазом частиц независимо от природы конструкции антитела BiTE®.

Таблица 26: Оценка невидимых невооруженным глазом частиц методом МФВ в препаратах мишень F-не-HLE (каноническая), -hALB и -scFc после теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния.

Конструкция	He-HLE (каноническая)				hALB				scFc			
	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
Размер частиц [мкм]												
T0	146	35	12	0	281	71	35	0	298	150	33	0
4н 37°C	410	163	23	0	742	225	11	0	110	44	0	0
4н 37°C (25 м. д. кремния)	69	35	11	0	272	91	34	0	146	55	11	0

Образцы, которые подвергали тепловому стрессу, также анализировали методом слабой катионообменной (СКО) хроматографии, чтобы количественно оценить содержание зарядовых вариантов, используя UPLC Aquity H-класса от Waters. Применяли 4,6×100 мм колонку Protein-Pak Hi Res CM 7 μ m (Waters, кат. № 186004929). Температуру колонки устанавливали на 30°C. Скорость потока устанавливали на 0,65 мл/мин. Применяемый градиент был спроектирован следующим образом (Таблица 27). Температуру автодозатора поддерживали при 2-8°C.

Таблица 27: Градиент, применяемый для СКО хроматографии

Время [мин:с]	% А	% В
	20 мМ фосфата натрия, pH 6,5	20 мМ фосфата натрия, 250 мМ хлорида натрия, pH 6,5
00:00	100	0
04:00	100	0
25:00	50	50

25:01	0	100
29:00	0	100
29:01	100	0
33:00	100	0

Вводили общее количество белка 3 мкг. Выявление базировалось на флуоресценции (возбуждение на 280 нм, эмиссия на 325 нм). Интегрирование пиков проводили с помощью программного обеспечения Empower®. Относительные площади под кривыми основного пика, а также для кислых и основных зарядовых вариантов приведены в Таблице 28.

Тепловой стресс приводил к снижению процентной доли, приходящейся на основной пик, что должно быть связано с преобладающим образованием кислых зарядовых вариантов. Уменьшение процентной доли, приходящейся на основной пик, было наименее выражено для scFc-конструкции (7,5%). Основные зарядовые варианты образовывались в обеих конструкциях с продлением времени полужизни после воздействия света. Повышение количества основных зарядовых вариантов находилось в диапазоне от 5 до 6% в конструкциях hALB и scFc.

Таблица 28: Оценка зарядовых вариантов методом СКО-хроматографии в препаратах мишень F-не-HLE (каноническая), -hALB и -scFc после индуцированного теплом и светом стресса.

Конструкция	He-HLE (каноническая)			hALB			scFc		
Фракция	% основной	% кислых	% основных	% основной	% кислых	% основных	% основной	% кислых	% основных
T0	89,9	3,6	6,5	83,3	0,7	16,0	74,5	3,4	22,1
4н 37°C	79,3	11,1	9,5	75,6	9,8	14,6	67,0	11,2	21,8

В дополнение чистоту образцов оценивали в подвергнутых тепловому и световому стрессу образцах, используя анализ методом микрофлюидного капиллярного электрофореза в присутствии

додecilсульфата натрия (КЭ-ДСН) на основе системы LabChip GXII (Perkin Elmer). Денатурирующий раствор для образцов состоял из буфера для образца HT Protein Express (поставляемого Perkin Elmer) с добавлением 34 мМ дитиотреитола. Каждый образец разводили 1:8 денатурирующим раствором и нагревали до 70°C в течение 10 минут вместе с лэддером protein express. В 40 мкл денатурированного образца добавляли 35 мкл воды для инъекций (ВДИ). В 12 мкл лэддера добавляли 120 мкл ВДИ. Образцы, лэддер, промывочный буфер protein express, гелевый краситель и обесцвечивающий раствор переносили в соответствующие резервуары. Образцы загружали электрокинетическим способом из микротитровального планшета на чип, объединяя разделение, окрашивание, обесцвечивание и выявления белка и его размерных вариантов. Оценивали полученные в результате электроферограммы и записывали изменения в чистоте. Общая информация по выраженной в процентах чистоте, зарегистрированной после стресса, приведена в Таблице 29 и сравнена с не подвергнутыми стрессу образцами (T0).

Более высокую чистоту наблюдали для конструкций hALB и scFc по сравнению с конструкцией не-HLE во всех условиях. Небольшое снижение чистоты по сравнению с T0 было зарегистрировано для конструкций hALB и scFc после теплового и светового стресса. Снижение чистоты после 4-недельного хранения при 37°C составляло в общем 8,4% для конструкции hALB и 6,6% для конструкций scFc. Снижение после воздействия света было сравнимо для конструкций hALB и scFc.

Таблица 29: Обобщенная информация по выраженной в процентах чистоте в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень F-не-HLE, -hALB и -scFc, определенной с помощью LabChip GXII (Caliper).

Конструкция	He-HLE (каноническая)	hALB	scFc
T0	57,4	96,0	92,2
4н 37°C	60,6	87,6	85,6
Воздействие света	61,5	90,1	86,4

Готовили разные конструкции антител BiTE®, сконструированные для нацеливания на мишень E, включая мишень E-hALB и мишень E-scFc, соответственно. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл для обеих конструкций. Приготовленные конструкции антител BiTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутылкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при 37°C (мишень E-hALB) и 40°C (мишень E-scFc) в течение 4 недель. Образцы, хранимые при -70°C, служили в качестве контроля (T0). Образцы анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в Примере 13. Результаты приведены в Таблице 30.

scFc-конструкция демонстрировала меньшее снижение количества мономеров (2,3%) после теплового стресса по сравнению с конструкцией hALB (4,0%), хотя температура инкубации была немного выше.

Таблица 30: Обобщенная информация по процентной доле, приходящейся на мономерный пик, в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень F-hALB и -scFc, определенной с помощью ЭХ-УЭЖХ.

Конструкция	hALB	scFc
T0	97,6%	99,8%
4w	93,6%	97,5%

[296] Пример 16:

Исследовали разные конструкции антител BiTE®, сконструированные для нацеливания на мишень I, включая мишень I-X-тело и мишень I-scFc. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции антител BiTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутылкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при -20°C и 37°C в течение 4 недель. Кроме того, все образцы подвергали воздействию 1,2 Млк видимого света и 173 Вт*ч/м² УФА-света. Температуру в камере устанавливали на 25°C. Образцы, хранимые при -70°C, служили в

качестве контроля (T0). Образцы, хранимые при -20 и -37°C, анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в Примере 13. Результаты приведены в Таблице 31.

scFc-конструкция сохраняла более высокое содержание мономеров при хранении в течение четырех недель при -20 и 37°C соответственно по сравнению с X-телом.

Таблица 31: Обобщенная информация по содержанию мономеров в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень I-X-тело и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ.

Конструкция	X-тело	scFc
T0	100,0	98,8
4н -20°C	97,1	97,9
4н 37°C	94,5	95,7

Кроме того, не подверженные стрессу образцы оценивали в отношении наличия невидимых невооруженным глазом частиц с помощью микрофлюидной визуализации (МФВ), используя метод, описанный в Примере 13. Результаты приведены в Таблице 32. Препарат мишень I-scFc демонстрировал существенно меньшие количества невидимых невооруженным глазом частиц по сравнению с препаратом мишень I-X-тело. Это применимо ко всем включенным размерным фракциям.

Таблица 32: Оценка невидимых невооруженным глазом частиц методом МФВ в не подверженных стрессу конструкциях мишень I-X-тело и -scFc

Конструкция	X-тело				scFc			
Размер частиц [мкм]	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
T0	2648	688	192	32	160	64	43	11

Образцы, которые подвергали световому стрессу, также анализировали методом слабой катионообменной (СКО) хроматографии, чтобы количественно оценить процентное содержание зарядовых вариантов, используя UPLC Aquity H-класса от Waters в соответствии с методом, описанным в Примере 13. Относительные площади под кривыми основного пика, а также для кислых и основных зарядовых вариантов приведены в Таблице 33.

scFc-конструкция продемонстрировала повышенную стабильность после воздействия света по сравнению с X-телом, на что указывает менее выраженное уменьшение основного пика, которое в общем составило 1,4% по сравнению с 5,5% для конструкции X-тела.

Таблица 33: Оценка зарядовых вариантов методом СКО-хроматографии в препаратах мишень I-X-тело и -scFc после индуцированного теплом и светом стресса.

Конструкция	X-тело			scFc		
Фракция	% основной	% кислых	% основных	% основн й	% кислых	% основн ых
T0	51,4	30,3	18,3	83,5	1,3	15,2
Воздействие света	45,9	33,2	20,9	82,1	1,2	16,7

[297] Пример 17: Эксклюзионная хроматография биспецифических scFc-вариантов

Конструкции D9F, T2G, D3L, T7I и K6C (смотрите Фигуру 7) исследовали в отношении их поведения во время испытаний методом эксклюзионной хроматографии в соответствии со стандартными процедурами. Конкретнее, определенное количество, составляющее 25 мкг, каждой конструкции анализировали (при 750 мкл/мин) в цитратном лизиновом буфере (10 mM и 75 mM, pH7) на колонке Superdex 200 increase 10/300GL при комнатной температуре и записывали ОП на 280 нм. После этого проводили сравнение конструкций в отношении времени удержания. В результате конструкция D9F демонстрировала существенно замедленное элюирование (Таблица 34) по сравнению с T2G, D3L, T7I и K6C, что указывает на разницу в структуре/упорядочении Fc-доменов. Эта разница во времени удержания была наиболее существенной в случае конструкции T7I, содержащей неспаренные цистеины в шарнирной области и связь CH₂ и CH₂CH₃ с CH₃ (18,98 мин и 18,62 мин, разница 0,36 мин). При этом разница во времени удержания в 0,16 мин между D9F и T2G является существенной, учитывая соответствующее время удержания БСА-контроля. БСА-контроль показывал время удержания 19,07 мин для мономеров и 16,82 мин для димеров, демонстрируя разницу в 2,25 мин во времени

удержания в случае удвоенной молекулярной массы. Следовательно, так как конструкции имеют структурную разницу только в Fc-части, разница во времени удержания в 0,16 мин является существенной. В целом, конструкция D9F продемонстрировала наибольшее время удержания, что указывает на самое сильное связывание. Этот вывод позволяет ожидать, что D9F также имеет самое большое время полужизни *in vivo*.

Таблица 34

Конструкция	Время удержания в мин
D9F	18,98
T2G	18,82
D3L	18,78
K6C	18,77
T7I	18,62
Мономер БСА	19,07
Димер БСА	16,82

[298] Пример 18: Определение методом поверхностного плазмонного резонанса связывания с человеческим FcRn (FCGRT/B2M)

Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C (Фигура 7) исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППР (Biacore) экспериментах в соответствии со стандартными процедурами. Конкретнее, сенсорные чипы CM5 (GE Healthcare) иммобилизовали 450–500 ЕО FCGRT/B2M (ACRO Biosystems), используя буфер на основе ацетата Na, pH 4,5, и подвижный буфер, состоящий из 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0. Затем конструкции вводили в последовательных опытах в двух концентрациях 250 нМ и 125 нМ, разведенных в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, и при 36°C. Ассоциацию проводили в течение 90 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин с последующей фазой диссоциации в течение 90 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, при 36°C. Последующее восстановление проводили в течение 10 с при 30 мкл/мин с помощью 10 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 7,4.

Максимальное связывание во время инъекционной фазы измеряли

для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. Средние значения определения дубликатов приведены на Фигуре 8А и 8В соответственно.

В результате конструкция D9F демонстрировала существенно большее увеличение массы на покрытом FcRn чипе CM5 по сравнению с T2G, D3L, T7I и K6C, что указывает на большую аффинность связывания D9F с человеческим FcRn. Это наблюдение имело место для обеих концентраций соответствующих конструкций.

Связывание с FcRn опосредуется Fc-частью в конструкциях. Более сильное связывание с человеческим FcRn, согласно описанию в литературе, является показателем большего времени полужизни *in vivo* благодаря более высокому внутриклеточному сохранению соответствующего белка и, следовательно, сниженного уровня деградации. По этой причине более сильное связывание D9F с человеческим FcRn по сравнению с другими конструкциями делает эту молекулу бесспорно превосходящей в качестве основы для терапевтических молекул, обеспечивающей более длительное нахождение потенциального лекарственного препарата в организме пациента и меньшую частоту введения лекарственного препарата.

[299] Пример 19: Определение методом поверхностного плазмонного резонанса связывания с человеческим FcRn (FCGRT/B2M)

Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C и человеческое IgG1-каппа антитело MT201 исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППР (Biacore) экспериментах в соответствии со стандартными процедурами. Конкретнее, сенсорные чипы CM5 (GE Healthcare) иммобилизовали около 350 ЕО FCGRT/B2M (ACRO Biosystems), используя буфер на основе ацетата Na, pH 4,5, и подвижный буфер, состоящий из 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0. Затем конструкции и человеческий IgG1-каппа контроль (MT201) вводили в концентрации 125 нМ, разведенной в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, и при 36°C. Ассоциацию проводили в течение 90 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин с последующей фазой диссоциации в

течение 60 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, при 36°C. Последующее восстановление проводили в течение 10 с при 30 мкл/мин с помощью 10 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 7,4.

Максимальное связывание во время фазы инъекции измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (EO), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. На Фигуре 9 приведены средние значения определения дубликатов, включая планки погрешностей, указывающие стандартное отклонение.

В результате конструкция D9F демонстрировала существенно большее увеличение массы на покрытом FcRn чипе CM5 по сравнению с T2G, D3L, T7I и K6C, что указывает на большую аффинность связывания D9F с человеческим FcRn. Увеличение массы на покрытом FcRn чипе CM5 для D9F хорошо сравнимо с увеличением массы человеческого IgG1-каппа контрольного антитела MT201, что указывает на сравнимое связывание конструкции D9F с человеческим FcRn.

Связывание с FcRn опосредуется Fc-частью человеческого IgG1 в конструкциях. Более сильное связывание с человеческим FcRn, согласно описанию в литературе, является показателем большего времени полужизни *in vivo* благодаря более высокому внутриклеточному сохранению соответствующего белка и, следовательно, сниженного уровня деградации. По этой причине более сильное связывание D9F с человеческим FcRn в диапазоне человеческого IgG1-каппа антитела (MT201) по сравнению с другими конструкциями делает эту молекулу бесспорно превосходящей в качестве основы для терапевтических молекул, обеспечивающей более длительное нахождение потенциального лекарственного препарата в организме пациента, предположительно в диапазоне полноразмерного человеческого антитела IgG1, и меньшую частоту введения лекарственного препарата.

SEQ ID NO:	Описание	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ

1.	Линкер G_4S	GGGGS
2.	Линкер $(G_4S)_2$	GGGGSGGGGS
3.	Линкер $(G_4S)_3$	GGGGSGGGGSGGGGS
4.	Линкер $(G_4S)_4$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
5.	Линкер $(G_4S)_5$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
6.	Линкер $(G_4S)_6$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
7.	Линкер $(G_4S)_7$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
8.	Линкер $(G_4S)_8$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
9.	Пептидный линкер	PGGGGS
10.	Пептидный линкер	PGGDGS
11.	Пептидный линкер	SGGGGS
12.	Пептидный линкер	GGGG
13.	CD3ε-связывающая VL	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL
14.	CD3ε-связывающая VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS
15.	CD3ε-связывающий scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ TVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVL
16.	гекса-гистидиновая метка	HHHHHH
17.	Fc-мономер-1 +c/-g	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
18.	Fc-мономер-2 +c/-g/delGK	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
19.	Fc-мономер-3 -c/+g	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20.	Fc-мономер-4	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

	-c/+g/delGK	HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
21.	Fc-мономер-5 -c/-g	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
22.	Fc-мономер-6 -c/-g/delGK	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
23.	Fc-мономер-7 +c/+g	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
24.	Fc-мономер-8 +c/+g/delGK	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
25.	scFc-1	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG SGGGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPC EEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
26.	scFc-2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE

		QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSP
27.	scFc-3	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
28.	scFc-4	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGS GGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSP
29.	scFc-5	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
30.	scFc-6	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGS

		GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSP
31.	scFc-7	DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPC EEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
32.	scFc-8	DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSP
33.	Мишень A-HLE Гетеро-Fc, цепь 1	QVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTTFSDYMTWIRQAPGKGLEW LSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVY YCARDRNSHFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPS SVSASVGRVTITCRASQGINTWLAWYQQKPKAPKLLIYGASGLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQAQKSFPRTFGQGTK VEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGGGSGGGGQTVVTVQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDE AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

		WESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
34.	Мишень A-HLE Гетеро-Fc, цепь 2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35.	Мишень A-HLE hALB-слияние	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYMTWIRQAPGKGLEW LSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVY YCARDRNSHFYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPS SVSASVGDRTITCRASQGINTWLAWYQQKPKGAPKLLIYGASGLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQPEDFATYYCQAKSFPRTFGQGTK VEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWW RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDE AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGDGSDAHKSEVAHRFKDLGEE NFKALVLIIFAQYLLQCPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DK SLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP N LPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFA KRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQK FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSV VLL LRLAKTYETTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC E LFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKH PEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPC FSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVK HKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQA ALGLHHHHHHH
36.	Мишень B-HLEa X-тело, цепь 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSSYELTQ PPSVSVSPGQTASITCSGDRLG EKYTSWYQQRPQGSPLLVIYQDTKR PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GGG TKLTVLASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSSLGTQTYICNVN HK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGST YRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDT

		TPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
37.	Мишень В-HLEb X-тело, цепь 2	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW VAFIWEYEGSNKYAESVKDRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLSPGK
38.	Мишень В-HLE Гетеро-Fc, цепь 1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW VAFIWEYEGSNKYAESVKDRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGS YELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLEKYSWYQQRPQSPLLVIY QDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYQCWESSTV VFGGGLKLTVLSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVS SGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGLKLTVLGGGDKHTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
39.	Мишень В-HLE Гетеро-Fc, цепь 2	DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
40.	Мишень С-HLE Гетеро-Fc, цепь 1	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVKQAPGQCLEW MGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVY YCARWSWSDGYVYFDYWGGT SVTVSSGGGGSGGGGSQTVVTQ TQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKN SLAWYQQKPGQPPK LLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSA HFPITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASG

		FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
41.	Человеческий BCMA	MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPQLRCSSTPPLTCQRYCNASVTN SVKGTNAILWTCGLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGS GLLG MANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDS DHCFLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR
42.	БКД человеческого BCMA	MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPQLRCSSTPPLTCQRYCNASVTN SVKGTNA
43.	BCMA макаки	MLQMARQCSQNEYFDSLHDCCKPCQLRCSSTPPLTCQRYCNASMTNS VKG MNAILWTCGLGLSLIISLAVFVLTFLLRKMSSEPLKDEFKNTGSG LLG MANIDLEKGR TGDEIVLPRGLEYTVEECTCEDCIKNKPKVDS DHCFLPAMEEGATILVTTKTNDYCNSLSAALS VTEIEKSISAR
44.	БКД BCMA макаки	MLQMARQCSQNEYFDSLHDCCKPCQLRCSSTPPLTCQRYCNASMTNS VKG MNA
45.	VH CDR1 BCMA-08	NHIIH
46.	VH CDR2 BCMA-08	YINPYPGYHAYNEKFQGG
47.	VH CDR3 BCMA-08	DGY YRDTDVLDY
48.	VL CDR1 BCMA-08	QASQDISNYLN
49.	VL CDR2 BCMA-08	YTSRLHT
50.	VL CDR3 BCMA-08	QQGNTLPWT
51.	VH BCMA-08	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNHIHWVRQAPGQGLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVY YCARDGY YRDTDVLDYWGQGT LVTVSS
52.	VL BCMA-08	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTL PWTFGQGTKLEIK
53.	scFv BCMA-08	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNHIHWVRQAPGQGLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVY

		YCARDGYRDTDVLDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFG QGTKLEIK
54.	Биспецифическая молекула BCMA-08 xI2C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHHIHWVRQAPGQGLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFG QGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGG GSGGGGSGGGGSGTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
55.	Биспецифическая молекула scFc BCMA-08 xI2C -scFc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHHIHWVRQAPGQGLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFG QGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGG GSGGGGSGGGGSGTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLGGAALTLGSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
56.	Биспецифическая молекула scFc BCMA-08 xI2C -scFc _delGK	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHHIHWVRQAPGQGLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFG QGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA

		MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG GGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
57.	VH (CC) BCMA-08_CC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTHNIIHWVRQAPGQCLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDYAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLTVTVSS
58.	VL (CC) BCMA-08_CC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDYATYYCQQGNTL PWTFGCGTKLEIK
59.	scFv (CC) BCMA-08_CC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTHNIIHWVRQAPGQCLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDYAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMT QSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDYATYYCQQGNTLPWTFG CGTKLEIK
60.	Биспецифическая молекула (CC) BCMA- 08_CCxI2C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTHNIIHWVRQAPGQCLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDYAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMT QSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDYATYYCQQGNTLPWTFG CGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG GGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
61.	Биспецифическая молекула scFc (CC) BCMA-08_CC xI2C - scFc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTHNIIHWVRQAPGQCLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDYAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMT QSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS

		RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFG CGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGG GSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GSGGGGSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
62.	Биспецифическая молекула scFc (CC) BCMA-08_CC xI2C - scFc_delGK	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHHIHWVRQAPGQCLEW MGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMELSLSLRSEDTAVY YCARDGYRDTDVLDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPKGAPKLLIYYTS RLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFG CGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGG GSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GGGGSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
63.	VH CDR1 BCMA-06	NFDMA
64.	VH CDR2 BCMA-06	SITTGGGDTYYADSVKG

65.	VH CDR3 BCMA-06	HGYDGYHLFDY
66.	VL CDR1 BCMA-06	RANQGISNNLN
67.	VL CDR2 BCMA-06	YTSNLQS
68.	VL CDR3 BCMA-06	QQFTSLPYT
69.	VH BCMA-06	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTLLTVSS
70.	VL BCMA-06	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPKAPKPL IYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSL PYTFGGQGTKLEIK
71.	scFv BCMA-06	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPKAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG QGTKLEIK
72.	Биспецифическая молекула BCMA-06 xI2C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPKAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG QGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGG GGSGGGSGGGGQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
73.	Биспецифическая молекула scFc BCMA-06 xI2C -scFc	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPKAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG QGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGG GGSGGGSGGGGQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL

		GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGG GGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
74.	Биспецифическая молекула scFc BCMA-06 xI2C - scFc_delGK	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSED TAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRTITCRANQGISNNLNWYQQKPGKAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG QGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGG GGSGGGSGGGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTL SGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
75.	VH (CC) BCMA-06_CC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKCLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSED TAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGT LVTVSS
76.	VL (CC) BCMA-06_CC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRANQGISNNLNWYQQKPGKAPKPL IYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSL PYTFGCGTKLEIK
77.	scFv (CC) BCMA-06_CC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKCLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSED TAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRTITCRANQGISNNLNWYQQKPGKAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSSLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG

		CGTKLEIK
78.	Биспецифическая молекула (CC) BCMA- 06_CCxI2C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKCLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRTITTCRANQGISNNLNWYQQKPKGAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG CGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
79.	Биспецифическая молекула scFc (CC) BCMA-06_CC xI2C - scFc	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKCLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRTITTCRANQGISNNLNWYQQKPKGAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG CGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNY PNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGG GGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
80.	Биспецифическая молекула scFc (CC) BCMA-06_CC xI2C - scFc_delGK	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKCLVW VSSITTTGGGDTYYADSVKGRFTISRDNASTLYLQMDSLRSEDYAVY YCVRHGYDGYHLFDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRTITTCRANQGISNNLNWYQQKPKGAPKPLIYYTS NLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFG CGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNY

		PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQ PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
81.	VH CDR1 BCMA-14	DYYIN
82.	VH CDR2 BCMA-14	WIYFASGNSEYNQKFTG
83.	VH CDR3 BCMA-14	LYDYDWYFDV
84.	VL CDR1 BCMA-14	KSSQSLVHSNGNTYLH
85.	VL CDR2 BCMA-14	KVSNRFS
86.	VL CDR3 BCMA-14	SQSSIYPWT
87.	VH BCMA-14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDNAVY FCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSS
88.	VL BCMA-14	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQ SPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCS QSSIYPWTFGQGTKLEIK
89.	scFv BCMA-14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDNAVY FCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIK
90.	Биспецифическая молекула BCMA-14 xI2C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDNAVY FCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN

		KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
91.	Биспецифическая молекула scFc BCMA-14 xI2C -scFc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDТАVY FCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
92.	Биспецифическая молекула scFc BCMA-14 xI2C - scFc_delGK	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDТАVY FCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLVSPGGTVTTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG

		NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
93.	VH (CC) BCMA-14_CC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQCLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSS
94.	VL (CC) BCMA-14_CC	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQ SPQQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCS QSSIYPWTFGCGTKLEIK
95.	scFv (CC) BCMA-14_CC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQCLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGCGTKLEIK
96.	Биспецифическая молекула (CC) BCMA- 14_CC xI2C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQCLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
97.	Биспецифическая молекула scFc (CC) BCMA-14_CC xI2C - scFc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQCLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK

		ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP GK
98.	Биспецифическая молекула scFc (CC) BCMA-14_CC xI2C - scFc_delGK	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQCLEW MGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTDRDTSINTAYMELSSLTSEDNAVY FCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTS SGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQT PLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTS SGGGSGGGSGGGGSGTQVTVTQEPSTLTVSPGGTTLTLCGSSTGAVTS GNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGG GGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
99.	Шарнир IgG1	DKTHTCPPCP
100.	Шарнир IgG2	ERKCCVECPPCP
101.	Шарнир IgG3	ELKTPLDTTHTCPRCP
102.	Шарнир IgG4	ESKYGPFCPSCP
103.	Шарнир IgG3	ELKTPLGDTTHTCPRCP
104.	Шарнир IgG1	EPKSCDKTHTCPPCP
105.	Мишень F (cc) x I2C-шарнир-CH2-CH3- линкер-шарнир-CH2- CH3 Биспецифическая молекула HLE (DF9)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEW VAVIWDYDGSCKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLLTVTS SGGGGSGGGSGGGGSDT VMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPP RLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS

		GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSST GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGGSDKHTCPCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGST YRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
106.	Мишень F (cc) x I2C-шарнир-CH2-CH3- линкер-CH2-CH3 Биспецифическая молекула HLE (T2G)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEW VAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDT VMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPQGPP RLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSST GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGGSAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
107.	Мишень F (cc) x I2C-шарнир-CH2- линкер-шарнир-CH2- CH3-линкер-CH3 Биспецифическая	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEW VAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDT VMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPQGPP RLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQS

	молекула HLE (D3L)	THVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSST GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSG GGGSGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPDSIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
108.	Мишень F (cc) x I2C-шарнир-CH2- линкер-CH2-CH3- линкер-CH3 Биспецифическая молекула HLE (T7I)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEW VAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDT VMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPQGPP RLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTL EISRVEAEDGVVYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSST GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGSGGGGSGGGGSGGGGSAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPDSIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
109.	Мишень F (cc) x I2C-CH2-линкер-CH2- CH3-линкер-CH3	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEW VAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVY YCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDT

Биспецифическая молекула HLE (K6C)		VMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPP RLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQS THVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSST GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGSGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
---------------------------------------	--	--

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> AMGEN INC.
AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH

<120> БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ КОНСТРУКЦИИ АНТИТЕЛ К ВСМА И CD3, ВОВЛЕКАЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ

<130> AMG15674PCT

<150> 62/290,831

<151> 2016-02-03

<160> 109

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 2

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 3

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 4

<211> 20

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 5

<211> 25

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 5

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 6

<211> 30

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 6

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 7

<211> 35

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 8
<211> 40
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 8

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 9
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 9

Pro Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

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

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 10

Pro Gly Gly Asp Gly Ser
1 5

<210> 11
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 11

Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 12

<211> 4

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 12

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 13

<211> 109

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 13

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

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

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

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

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

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

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

<210> 14

<211> 125

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 14

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15

<211> 249

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 15

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 16
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 16

His His His His His His
1 5

<210> 17
<211> 227
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 17

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 18
<211> 225
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 18

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 19
<211> 227
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 19

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 20
<211> 225
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 20

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
				165					170					175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			180					185					190		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
		195					200					205			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	210					215					220				
Pro															
225															
<210>	21														
<211>	227														
<212>	Белок														
<213>	Искусственная последовательность														
<220>															
<223>	Синтетический пептид														
<400>	21														
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
1				5					10					15	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			20					25					30		
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
		35					40					45			
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
	50					55					60				
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr
65					70					75					80
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				85					90					95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			100					105					110		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		115					120					125			
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
	130					135					140				

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 22
<211> 225
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 22

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 23
<211> 227
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 23

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 24
<211> 225
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 24

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 25
<211> 484
<212> Блок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 25

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	50	55	60	
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	65	70	75	80
Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	85	90	95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	100	105	110	
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	115	120	125	
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	130	135	140	
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	145	150	155	160
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	165	170	175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	180	185	190	
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	195	200	205	
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	210	215	220	
Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	225	230	235	240
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	245	250	255	
Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	260	265	270	
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	275	280	285	
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	290	295	300	

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305 310 315 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr
325 330 335

Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
340 345 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
355 360 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
370 375 380

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
405 410 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
420 425 430

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
435 440 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
450 455 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 26

<211> 480

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 26

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met		
			20					25					30				
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His		
		35					40					45					
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val		
	50					55					60						
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr		
65					70					75					80		
Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly		
				85					90					95			
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile		
			100					105					110				
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val		
		115					120					125					
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser		
	130					135					140						
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu		
145					150					155					160		
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro		
				165					170					175			
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val		
			180					185					190				
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met		
		195					200					205					
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser		
	210					215					220						
Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
225					230					235					240		
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp		
				245					250					255			
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly		
			260					265					270				

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
275 280 285

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
290 295 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
305 310 315 320

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
325 330 335

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
340 345 350

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
355 360 365

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
370 375 380

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
385 390 395 400

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
405 410 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
420 425 430

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
435 440 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
450 455 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 27
<211> 484
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 27

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	20	25	30	
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	35	40	45	
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	50	55	60	
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	65	70	75	80
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	85	90	95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	100	105	110	
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	115	120	125	
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	130	135	140	
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	145	150	155	160
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	165	170	175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	180	185	190	
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	195	200	205	
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	210	215	220	
Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	225	230	235	240
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	245	250	255	
Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	260	265	270	

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
290 295 300

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305 310 315 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
325 330 335

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
340 345 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
355 360 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
370 375 380

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
405 410 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
420 425 430

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
435 440 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
450 455 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 28

<211> 480

<212> Блок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 28

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
245 250 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
260 265 270

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
275 280 285

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
290 295 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
305 310 315 320

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
325 330 335

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
340 345 350

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
355 360 365

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
370 375 380

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
385 390 395 400

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
405 410 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
420 425 430

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
435 440 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
450 455 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 29

<211> 484

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 29

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
260 265 270

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
290 295 300

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305 310 315 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr
325 330 335

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
340 345 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
355 360 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
370 375 380

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
405 410 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
420 425 430

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
435 440 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
450 455 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 30
<211> 480
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 30

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser		
210						215					220						
Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
225					230					235						240	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp		
				245					250					255			
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly		
			260					265					270				
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile		
		275						280				285					
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu		
	290					295					300						
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His		
305					310					315					320		
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg		
				325					330					335			
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys		
			340					345					350				
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu		
		355					360					365					
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr		
	370					375					380						
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu		
385					390					395					400		
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp		
				405					410					415			
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val		
			420					425					430				
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp		
		435					440					445					
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His		
	450					455					460						

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 31

<211> 484

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 31

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	210	215	220
Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	225	230	235
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	245	250	255
Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	260	265	270
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	275	280	285
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	290	295	300
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	305	310	315
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	325	330	335
Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	340	345	350
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	355	360	365
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	370	375	380
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	385	390	395
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	405	410	415
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	420	425	430
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	435	440	445
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	450	455	460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 32

<211> 480

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 32

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	180	185	190
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	195	200	205
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	210	215	220
Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	225	230	235
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	245	250	255
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	260	265	270
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	275	280	285
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	290	295	300
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	305	310	315
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	325	330	335
Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	340	345	350
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	355	360	365
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	370	375	380
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	385	390	395
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	405	410	415
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	420	425	430

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
435 440 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
450 455 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 33

<211> 725

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 33

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
130 135 140

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
145 150 155 160

Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
 180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys
 210 215 220

Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 245 250 255

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
 260 265 270

Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 275 280 285

Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala
 290 295 300

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
 305 310 315 320

Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu
 325 330 335

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser
 340 345 350

Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 355 360 365

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 370 375 380

Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 385 390 395 400

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser
 405 410 415

Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
 420 425 430

Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	435	440	445
Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	450	455	460
Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	465	470	475
Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	485	490	495
Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	500	505	510
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	515	520	525
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	530	535	540
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	545	550	555
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	565	570	575
Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	580	585	590
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	595	600	605
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	610	615	620
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	625	630	635
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	645	650	655
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	660	665	670
Pro	Pro	Val	Leu	Lys	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	675	680	685

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
690 695 700

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
705 710 715 720

Leu Ser Pro Gly Lys
725

<210> 34
<211> 227
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 34

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val
 180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

Pro Gly Lys
 225

<210> 35
 <211> 1091
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
 130 135 140

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
145 150 155 160

Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys
210 215 220

Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
245 250 255

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
260 265 270

Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
275 280 285

Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala
290 295 300

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
305 310 315 320

Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu
325 330 335

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser
340 345 350

Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
355 360 365

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
385 390 395 400

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser
405 410 415

Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
420 425 430

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg
435 440 445

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly
450 455 460

Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser
465 470 475 480

Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Pro Gly
485 490 495

Gly Asp Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys
500 505 510

Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala
515 520 525

Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn
530 535 540

Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu
545 550 555 560

Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr
565 570 575

Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala
580 585 590

Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp
595 600 605

Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys
610 615 620

Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr
625 630 635 640

Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe
645 650 655

Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala		
			660					665					670				
Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu		
		675					680					685					
Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln		
	690					695					700						
Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser		
705					710					715					720		
Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr		
				725					730					735			
Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu		
			740					745					750				
Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln		
		755					760					765					
Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu		
	770					775					780						
Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala		
785					790					795					800		
Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys		
				805					810					815			
Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr		
			820					825					830				
Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg		
		835					840					845					
Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala		
	850					855					860						
Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu		
865					870					875					880		
Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu		
				885					890					895			
Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr		
			900					905					910				

Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
915 920 925

Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys
930 935 940

Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu
945 950 955 960

Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys
965 970 975

Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu
980 985 990

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr
995 1000 1005

Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile
1010 1015 1020

Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
1025 1030 1035

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
1040 1045 1050

Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
1055 1060 1065

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
1070 1075 1080

Gly Leu His His His His His His
1085 1090

<210> 36
<211> 571
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 36

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser
 130 135 140

Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
 165 170 175

Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile
 180 185 190

Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr
 195 200 205

Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala
 210 215 220

Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
 225 230 235 240

Leu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
 245 250 255

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 260 265 270

Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr
		275					280					285			
Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr
	290					295					300				
Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln
305					310					315					320
Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp
				325				330						335	
Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
			340					345					350		
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
		355					360					365			
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
	370					375					380				
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
385					390					395					400
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys
				405					410					415	
Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
			420					425					430		
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
		435					440					445			
Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys
	450					455					460				
Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu
465					470					475					480
Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe
				485					490					495	
Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu
			500					505					510		
Asn	Asn	Tyr	Asp	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
		515					520					525			

Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 37

<211> 577

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 37

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

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

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

Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser
130 135 140

Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser
145 150 155 160

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

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala
180 185 190

Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala
195 200 205

Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr
210 215 220

Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys
260 265 270

Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala
275 280 285

Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys
290 295 300

Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
305 310 315 320

Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu
325 330 335

Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Asp Lys
340 345 350

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
355 360 365

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
370 375 380

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
385 390 395 400

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
405 410 415

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
420 425 430

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
435 440 445

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
450 455 460

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
465 470 475 480

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
485 490 495

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
500 505 510

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
515 520 525

Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
530 535 540

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
545 550 555 560

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
565 570 575

Lys

<210> 38
<211> 732
<212> Блок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 38

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

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

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

Ala	Phe	Ile	Trp	Tyr	Glu	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val		
50						55					60						
Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr		
65					70					75					80		
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Ala	Arg	Arg	Ala	Gly	Ile	Ile	Gly	Thr	Ile	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met		
			100					105					110				
Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly		
		115					120					125					
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Tyr	Glu	Leu		
	130					135					140						
Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gln	Thr	Ala	Ser	Ile		
145					150					155					160		
Thr	Cys	Ser	Gly	Asp	Arg	Leu	Gly	Glu	Lys	Tyr	Thr	Ser	Trp	Tyr	Gln		
				165					170					175			
Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Leu	Leu	Val	Ile	Tyr	Gln	Asp	Thr	Lys		
			180					185					190				
Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn		
		195					200					205					
Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Met	Asp	Glu	Ala	Asp		
	210					215					220						
Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ala	Trp	Glu	Ser	Ser	Thr	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly		
225					230					235					240		
Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu		
				245					250					255			
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu		
			260					265					270				
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp		
		275					280					285					
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg		
	290					295					300						

Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	305	310	315	320
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	325	330	335	
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	340	345	350	
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	355	360	365	
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	370	375	380	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	385	390	395	400
Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	405	410	415	
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	420	425	430	
Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	435	440	445	
Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	450	455	460	
Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	465	470	475	480
Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	485	490	495	
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	500	505	510	
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	515	520	525	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	530	535	540	
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	545	550	555	560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
725 730

<210> 39
<211> 227
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 39

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 40
<211> 736
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 40

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

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr		
			20					25						30			
Gly	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Cys	Leu	Glu	Trp	Met		
		35					40					45					
Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Asp	Lys	Phe		
	50					55					60						
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr		
65					70					75					80		
Met	Glu	Ile	Arg	Asn	Leu	Gly	Gly	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85				90						95			
Ala	Arg	Trp	Ser	Trp	Ser	Asp	Gly	Tyr	Tyr	Val	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp		
			100					105					110				
Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly		
		115					120					125					
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser		
	130					135					140						
Pro	Asp	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Leu	Gly	Glu	Arg	Thr	Thr	Ile	Asn	Cys		
145					150					155					160		
Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Asp	Ser	Ser	Thr	Asn	Lys	Asn	Ser	Leu		
				165					170					175			
Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Leu	Ser		
			180					185					190				
Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser		
		195					200					205					
Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Asp	Ser	Pro	Gln	Pro	Glu		
	210					215					220						
Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Ala	His	Phe	Pro	Ile	Thr		
225					230					235					240		
Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
				245					250					255			
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
			260					265					270				

Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	275	280	285
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	290	295	300
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	305	310	315
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	325	330	335
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	340	345	350
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	355	360	365
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	370	375	380
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	385	390	395
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	405	410	415
Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	420	425	430
Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	435	440	445
Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	450	455	460
Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	465	470	475
Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	485	490	495
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	500	505	510
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	515	520	525

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
530 535 540

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
545 550 555 560

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
565 570 575

Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
580 585 590

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
595 600 605

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
610 615 620

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
625 630 635 640

Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
645 650 655

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
660 665 670

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys
675 680 685

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
690 695 700

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
705 710 715 720

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
725 730 735

<210> 41
<211> 184
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 41

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
180

<210> 42
<211> 54
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 42

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

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

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

Val Lys Gly Thr Asn Ala
50

<210> 43

<211> 183

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 43

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

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Asp Tyr Cys Asn Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ser Val Thr Glu Ile
165 170 175

Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
180

<210> 44
<211> 53
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 44

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

Leu	Leu	His	Asp	Cys	Lys	Pro	Cys	Gln	Leu	Arg	Cys	Ser	Ser	Thr	Pro
			20					25					30		

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

Lys	Gly	Met	Asn	Ala
	50			

<210> 45
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 45

Asn	His	Ile	Ile	His
1				5

<210> 46
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 46

Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Pro	Gly	Tyr	His	Ala	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 47
<211> 12
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 47

Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 48
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 48

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 49
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 49

Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 50

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 51
<211> 121
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 51

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

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

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 52

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

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

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

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

<210> 53

<211> 243

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 53

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 54
<211> 498
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 54

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160

Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro		
				165					170					175			
Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu	His	Thr		
			180					185					190				
Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr		
		195					200					205					
Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys		
	210					215					220						
Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu		
225					230					235					240		
Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser		
				245					250					255			
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala		
			260					265					270				
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln		
		275					280					285					
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr		
	290					295					300						
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr		
305					310					315					320		
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn		
				325					330					335			
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn		
			340					345					350				
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr		
		355					360					365					
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
	370					375					380						
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr		
385					390					395					400		
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly		
				405					410					415			

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495

Val Leu

<210> 55

<211> 986

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 55

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

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

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro
130						135					140				
Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln
145					150					155					160
Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro
				165					170					175	
Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu	His	Thr
			180					185					190		
Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
	195						200					205			
Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
210						215					220				
Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu
225					230					235					240
Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
				245					250					255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260					265					270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
				325					330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495

Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
500 505 510

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
515 520 525

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
530 535 540

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545 550 555 560

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
565 570 575

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
580 585 590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
595 600 605

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
610 615 620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625 630 635 640

Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro		
				645					650					655			
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn		
			660					665					670				
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu		
		675					680					685					
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val		
	690					695					700						
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln		
705					710					715					720		
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly		
			725						730					735			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly		
			740					745					750				
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys		
		755					760					765					
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
	770					775					780						
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
785					790					795					800		
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
				805					810					815			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu		
			820					825					830				
Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
		835					840					845					
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
	850					855					860						
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
865					870					875					880		
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu		
				885					890					895			

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 56
<211> 984
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 56

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
 130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
 145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
 180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 195 200 205

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
 210 215 220

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
 260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
 275 280 285

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
 290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
 305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
 325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
 340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
 385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
 405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
 420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
 435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
 450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
 465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
 485 490 495

Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 500 505 510

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 515 520 525

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 530 535 540

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 545 550 555 560

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
 565 570 575

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 580 585 590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 595 600 605

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 610 615 620

Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	625	630	635	640
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	645	650	655	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	660	665	670	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	675	680	685	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	690	695	700	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	705	710	715	720
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	725	730	735	
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	740	745	750	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	755	760	765	
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	770	775	780	
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	785	790	795	800
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	805	810	815	
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	820	825	830	
Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	835	840	845	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	850	855	860	
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	865	870	875	880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
885 890 895

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 57
<211> 121
<212> Блок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 57

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 58
<211> 107
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 58

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

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

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 243
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 59

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 60

<211> 498

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 60

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

[illegible]

<210> 61
<211> 986
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 61

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
275 280 285

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	485	490	495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	500	505	510	
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	515	520	525	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	530	535	540	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	545	550	555	560
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	565	570	575	
Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	580	585	590	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	595	600	605	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	610	615	620	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	625	630	635	640
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	645	650	655	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	660	665	670	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	675	680	685	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	690	695	700	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	705	710	715	720
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	725	730	735	

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
740 745 750

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
755 760 765

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
770 775 780

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785 790 795 800

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
805 810 815

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
820 825 830

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
835 840 845

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 62
<211> 984
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 62

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 Asn His
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	210	215	220
Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Leu	225	230	235
Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	245	250	255
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	260	265	270
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	275	280	285
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	290	295	300
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	305	310	315
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	325	330	335
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	340	345	350
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	355	360	365
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	370	375	380
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	385	390	395
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	405	410	415
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	420	425	430
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	435	440	445
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	450	455	460

Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	465	470	475	480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	485	490	495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	500	505	510	
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	515	520	525	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	530	535	540	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	545	550	555	560
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	565	570	575	
Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	580	585	590	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	595	600	605	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	610	615	620	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	625	630	635	640
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	645	650	655	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	660	665	670	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	675	680	685	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	690	695	700	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	705	710	715	720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 755 760 765

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 770 775 780

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 785 790 795 800

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 805 810 815

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
 820 825 830

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 835 840 845

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 850 855 860

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 865 870 875 880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 885 890 895

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 915 920 925

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 930 935 940

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 63
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 63

Asn Phe Asp Met Ala
1 5

<210> 64
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 64

Ser Ile Thr Thr Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 65
<211> 12
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 65

His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 66

Arg Ala Asn Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 67
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 67

Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 68
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 68

Gln Gln Phe Thr Ser Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 69
<211> 121
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 69

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70
<211> 107
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 70

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 71
<211> 243
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 71

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Asn Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Phe Thr Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 72

<211> 498

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 72

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

[illegible]

<210> 73
<211> 986
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 73

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Asn Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Phe Thr Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
275 280 285

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
290 295 300

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305 310 315 320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	485	490	495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	500	505	510	
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	515	520	525	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	530	535	540	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	545	550	555	560
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	565	570	575	
Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	580	585	590	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	595	600	605	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	610	615	620	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	625	630	635	640
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	645	650	655	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	660	665	670	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	675	680	685	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	690	695	700	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	705	710	715	720
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	725	730	735	

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
740 745 750

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
755 760 765

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
770 775 780

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785 790 795 800

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
805 810 815

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
820 825 830

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
835 840 845

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 74
<211> 984
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 74

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Asn Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
195 200 205

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
210						215					220				
Gln	Gln	Phe	Thr	Ser	Leu	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu
225					230					235					240
Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
				245					250					255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260					265					270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
				325					330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
				405					410					415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly
		435					440					445			
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu
	450					455					460				

Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	465	470	475	480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	485	490	495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	500	505	510	
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	515	520	525	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	530	535	540	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	545	550	555	560
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	565	570	575	
Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	580	585	590	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	595	600	605	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	610	615	620	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	625	630	635	640
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	645	650	655	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	660	665	670	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	675	680	685	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	690	695	700	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	705	710	715	720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 755 760 765

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 770 775 780

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 785 790 795 800

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 805 810 815

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
 820 825 830

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 835 840 845

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 850 855 860

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 865 870 875 880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 885 890 895

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 915 920 925

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 930 935 940

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 75

<211> 121

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 75

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 76

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 76

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 77
 <211> 243
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 77

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
 130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Asn Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Phe Thr Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 78
<211> 498
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 78

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

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

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

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

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

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

Val	Arg	His	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Gly	Tyr	His	Leu	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly		
			100					105					110				
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly		
		115					120					125					
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro		
	130					135					140						
Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg		
145					150					155					160		
Ala	Asn	Gln	Gly	Ile	Ser	Asn	Asn	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro		
				165					170					175			
Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Pro	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Asn	Leu	Gln	Ser		
			180					185					190				
Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr		
		195					200					205					
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys		
	210					215					220						
Gln	Gln	Phe	Thr	Ser	Leu	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Leu		
225					230					235					240		
Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser		
				245					250					255			
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala		
			260					265					270				
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln		
		275					280					285					
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr		
	290					295					300						
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr		
305					310					315					320		
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn		
				325					330					335			
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn		
			340					345					350				

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495

Val Leu

<210> 79
<211> 986
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 79

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

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

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

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

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Ser	Thr	Leu	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Val	Arg	His	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Gly	Tyr	His	Leu	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	100	105	110	
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	115	120	125	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	130	135	140	
Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	145	150	155	160
Ala	Asn	Gln	Gly	Ile	Ser	Asn	Asn	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	165	170		175
Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Pro	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Asn	Leu	Gln	Ser	180	185		190
Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	195	200		205
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	210	215	220	
Gln	Gln	Phe	Thr	Ser	Leu	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Leu	225	230	235	240
Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	245	250		255
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	260	265		270
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	275	280	285	
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	290	295	300	
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	305	310	315	320

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
325 330 335

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495

Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
500 505 510

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
515 520 525

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
530 535 540

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545 550 555 560

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
565 570 575

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
580 585 590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
595 600 605

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
610 615 620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625 630 635 640

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
645 650 655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
660 665 670

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
675 680 685

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
690 695 700

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705 710 715 720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
725 730 735

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
740 745 750

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
755 760 765

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
770 775 780

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785 790 795 800

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
805 810 815

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
820 825 830

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
835 840 845

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 80
<211> 984
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 80

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

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

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

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

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

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

Val Arg His Gly Tyr Tyr Asp Gly Tyr His Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
 130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
 145 150 155 160

Ala Asn Gln Gly Ile Ser Asn Asn Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
 180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
 195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 210 215 220

Gln Gln Phe Thr Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 245 250 255

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
 260 265 270

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
 275 280 285

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
 290 295 300

Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	
305					310					315					320	
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	
			325						330					335		
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	
			340					345					350			
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
		355					360					365				
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
	370					375					380					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	
385					390					395					400	
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	
			405					410						415		
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	
			420					425					430			
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	
		435					440					445				
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	
	450					455				460						
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	
465					470				475						480	
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	
			485					490						495		
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
		500						505					510			
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
		515					520					525				
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
	530					535					540					
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
545					550					555					560	

Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu		
				565					570					575			
Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His		
			580					585					590				
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys		
		595					600					605					
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln		
	610					615					620						
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met		
625					630					635					640		
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro		
				645					650					655			
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn		
			660					665					670				
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu		
		675					680					685					
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val		
	690					695					700						
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln		
705					710					715					720		
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
				725					730					735			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
			740					745					750				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala		
			755				760					765					
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro		
	770					775					780						
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val		
785					790					795					800		
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val		
				805					810					815			

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
820 825 830

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
835 840 845

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
850 855 860

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865 870 875 880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
885 890 895

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

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

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 81

Asp Tyr Tyr Ile Asn
1 5

<210> 82
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 82

Trp	Ile	Tyr	Phe	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Thr
1				5					10					15	

Gly

<210> 83

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 83

Leu	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10

<210> 84

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 84

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His
1				5					10					15	

<210> 85

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 85

Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser
1				5		

<210> 86

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 86

Ser Gln Ser Ser Ile Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 87
<211> 119
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 87

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 112
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 88

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
		50					55					60			
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
		65					70					75			
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ser
				85					90					95	
Ser	Ile	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
				100					105					110	
<210>		89													
<211>		246													
<212>		Белок													
<213>		Искусственная последовательность													
<220>															
<223>		Синтетический пептид													
<400>		89													
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	Pro	Asp	Tyr
				20					25					30	
Tyr	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
				35					40					45	
Gly	Trp	Ile	Tyr	Phe	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
						55							60		
Thr	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Asn	Thr	Ala	Tyr
								70					75		
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
										90					95
Ala	Ser	Leu	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly
										105					110
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
								120					125		
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser
								135					140		

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
145 150 155 160

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Ser Ile Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 90
<211> 501
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 90

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala	Ser	Leu	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly		
			100					105					110				
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
		115					120					125					
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser		
	130					135					140						
Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser		
145					150					155					160		
Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu		
				165					170					175			
Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn		
			180					185					190				
Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr		
		195					200					205					
Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile		
	210					215					220						
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ser	Ser	Ile	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly		
225					230					235					240		
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu		
				245					250					255			
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu		
			260					265					270				
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp		
		275					280					285					
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg		
	290					295					300						
Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp		
305					310					315					320		
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln		
				325					330					335			
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg		
			340					345					350				

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu
500

<210> 91

<211> 989

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 91

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Asn	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	85	90		95
Ala	Ser	Leu	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	100	105		110
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	115	120		125
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	130	135		140
Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	145	150	155	160
Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	165	170		175
Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	180	185		190
Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	195	200		205
Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	210	215	220	
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ser	Ser	Ile	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	225	230	235	240
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	245	250		255
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	260	265		270
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	275	280	285	
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	290	295	300	
Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	305	310	315	320

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	325	330	335	
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	340	345	350	
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	355	360	365	
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	370	375	380	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	385	390	395	400
Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	405	410	415	
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	420	425	430	
Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	435	440	445	
Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	450	455	460	
Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	465	470	475	480
Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	485	490	495	
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	500	505	510	
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	515	520	525	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	530	535	540	
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	545	550	555	560
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	565	570	575	

Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	580	585	590
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	595	600	605
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	610	615	620
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	625	630	635
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	645	650	655
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	660	665	670
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	675	680	685
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	690	695	700
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	705	710	715
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	725	730	735
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	740	745	750
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	755	760	765
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	770	775	780
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	785	790	795
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	805	810	815
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	820	825	830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 92
<211> 987
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 92

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

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

Gly	Trp	Ile	Tyr	Phe	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	
50						55					60					
Thr	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	
				85					90					95		
Ala	Ser	Leu	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
		115					120					125				
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	
	130					135					140					
Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	
145					150					155					160	
Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	
				165					170					175		
Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	
			180					185					190			
Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	
		195					200					205				
Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	
	210					215					220					
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ser	Ser	Ile	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	
225					230					235					240	
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	
				245					250					255		
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	
			260					265					270			
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	
		275					280					285				
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	
	290					295					300					

Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	305	310	315	320
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	325	330	335	
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	340	345	350	
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	355	360	365	
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	370	375	380	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	385	390	395	400
Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	405	410	415	
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	420	425	430	
Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	435	440	445	
Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	450	455	460	
Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	465	470	475	480
Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	485	490	495	
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	500	505	510	
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	515	520	525	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	530	535	540	
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	545	550	555	560

Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
				565					570					575	
Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr
			580					585					590		
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
		595					600					605			
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
	610					615					620				
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
625					630					635					640
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
				645					650					655	
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
			660					665					670		
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
		675					680					685			
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
	690					695					700				
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
705					710					715					720
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
				725					730					735	
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
			740					745					750		
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
		755					760					765			
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
	770					775					780				
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
785					790					795					800
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
				805					810					815	

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
820 825 830

Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
835 840 845

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
850 855 860

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
865 870 875 880

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
885 890 895

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
900 905 910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 93
<211> 119
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 93

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94
<211> 112
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 94

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Ser Ile Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 95
<211> 246
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 95

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
130 135 140

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
145 150 155 160

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Ser Ile Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 96
<211> 501
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 96

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
130 135 140

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
145 150 155 160

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn
180 185 190

Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	195	200	205
Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	210	215	220
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ser	Ser	Ile	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Cys	Gly	225	230	235
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	245	250	255
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	260	265	270
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	275	280	285
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	290	295	300
Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	305	310	315
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	325	330	335
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	340	345	350
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	355	360	365
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	370	375	380
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	385	390	395
Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	405	410	415
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	420	425	430
Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	435	440	445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu
500

<210> 97

<211> 989

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 97

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
130 135 140

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
145 150 155 160

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Ser Ile Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
 420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
 435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
 450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
 465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
 485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
 580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
755 760 765

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
770 775 780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
820 825 830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 98

<211> 987

<212> Блок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 98

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 Pro Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
130 135 140

Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	145	150	155	160
Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	165	170	175	
Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	180	185	190	
Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	195	200	205	
Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	210	215	220	
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ser	Ser	Ile	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Cys	Gly	225	230	235	240
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	245	250	255	
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	260	265	270	
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	275	280	285	
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	290	295	300	
Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	305	310	315	320
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	325	330	335	
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	340	345	350	
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	355	360	365	
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	370	375	380	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	385	390	395	400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
 405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
 420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
 435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
 450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
 465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
 485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
 580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 645 650 655

Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	660	665	670
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	675	680	685
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	690	695	700
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	705	710	715
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	725	730	735
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	740	745	750
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	755	760	765
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	770	775	780
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	785	790	795
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	805	810	815
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	820	825	830
Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	835	840	845
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	850	855	860
Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	865	870	875
Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	885	890	895
Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	900	905	910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 99
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 99

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 100
<211> 12
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 100

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 101
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 101

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro
1 5 10 15

<210> 102
<211> 12

<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 102

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 103
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 103

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15

Pro

<210> 104
<211> 15
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 104

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 105
<211> 994
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 105

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
260 265 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
275 280 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
290 295 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305 310 315 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
325 330 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
340 345 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
355 360 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385 390 395 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
405 410 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
420 425 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
435 440 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
450 455 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465 470 475 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
485 490 495

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys
500 505 510

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
515 520 525

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
530 535 540

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545 550 555 560

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
565 570 575

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
580 585 590

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
595 600 605

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
610 615 620

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625 630 635 640

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
645 650 655

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
660 665 670

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
675 680 685

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
690 695 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705 710 715 720

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
725 730 735

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
755 760 765

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
770 775 780

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
785 790 795 800

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
805 810 815

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
820 825 830

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
835 840 845

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
850 855 860

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
865 870 875 880

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
885 890 895

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
900 905 910

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
915 920 925

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
930 935 940

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
945 950 955 960

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
965 970 975

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
980 985 990

Gly Lys

<210> 106
<211> 984
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 106

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
 130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
 145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
 165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
 180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
 210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
 225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
 245 250 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 260 265 270

Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	
		275					280					285				
Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	
		290					295					300				
Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	
		305					310					315				
Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	
				325							330			335		
Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	
				340							345			350		
Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	
				355									365			
Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	
				370									380			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	
						390							395			
Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	
						405							410			
Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	
						420							425			
Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	
						435							440			
Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	
						450							455			
Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	
						465							470			
Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	
						485							490			
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	
						500							505			
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
						515							520			

Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	530	535	540	
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	545	550	555	560
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	565	570	575	
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	580	585	590	
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	595	600	605	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	610	615	620	
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	625	630	635	640
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	645	650	655	
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	660	665	670	
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	675	680	685	
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	690	695	700	
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	705	710	715	720
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	725	730	735	
Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	740	745	750	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	755	760	765	
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	770	775	780	

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785 790 795 800

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
805 810 815

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
820 825 830

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
835 840 845

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
850 855 860

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865 870 875 880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
885 890 895

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 107
<211> 1004
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 107

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
 130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
 145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
 165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
 180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
 210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
 225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
 245 250 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 260 265 270

Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	275	280	285
Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	290	295	300
Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	305	310	315
Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	325	330	335
Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	340	345	350
Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	355	360	365
Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	370	375	380
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	385	390	395
Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	405	410	415
Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	420	425	430
Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	435	440	445
Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	450	455	460
Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	465	470	475
Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	485	490	495
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	500	505	510
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	515	520	525

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
530 535 540

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545 550 555 560

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
565 570 575

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
580 585 590

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
595 600 605

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
610 615 620

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
625 630 635 640

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
645 650 655

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
660 665 670

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
675 680 685

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
690 695 700

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
705 710 715 720

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
725 730 735

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
740 745 750

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
755 760 765

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
770 775 780

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
785 790 795 800

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
805 810 815

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
820 825 830

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
835 840 845

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
850 855 860

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly
865 870 875 880

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
885 890 895

Ser Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
900 905 910

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
915 920 925

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
930 935 940

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
945 950 955 960

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
965 970 975

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
980 985 990

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
995 1000

<210> 108
<211> 994
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 108

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
 245 250 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 260 265 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
 275 280 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 290 295 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
 305 310 315 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
 325 330 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
 355 360 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
 385 390 395 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
 405 410 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
 420 425 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
 435 440 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 450 455 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
 465 470 475 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
 485 490 495

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	500	505	510
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	515	520	525
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	530	535	540
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	545	550	555
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	565	570	575
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	580	585	590
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	595	600	605
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	610	615	620
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	625	630	635
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	645	650	655
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	660	665	670
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	675	680	685
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	690	695	700
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	705	710	715
Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	725	730	735
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	740	745	750

Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val		
755							760			765							
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser		
770							775			780							
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu		
785							795									800	
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro		
							810									815	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val		
							825									830	
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met		
							840									845	
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser		
							855									860	
Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly		
							870									875	
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr		
							885									890	
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu		
							905									910	
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp		
							920									925	
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val		
							935									940	
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp		
							950									955	
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His		
							965									970	
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro		
							980									985	
							990										
Gly	Lys																

<210> 109
<211> 984
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 109

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Ser	Thr	His	Val	Pro	Arg
225					230					235					240
Thr	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
				245					250					255	
Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
			260					265					270		
Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys
		275					280					285			
Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
	290					295					300				
Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala
305					310					315					320
Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn
				325					330					335	
Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			340					345					350		
Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr
		355					360					365			
Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly
	370					375					380				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val
385					390					395					400
Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr
				405					410					415	
Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro
			420					425					430		
Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly
	435						440					445			
Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser
	450					455					460				
Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu
465					470					475					480

Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	
				485					490					495		
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	
			500					505						510		
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
		515					520					525				
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
	530					535					540					
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
545					550					555					560	
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	
				565					570					575		
Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	
			580					585					590			
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	
		595					600					605				
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	
	610					615					620					
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
625					630					635					640	
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
				645					650					655		
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
			660					665					670			
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
		675					680					685				
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	
	690					695					700					
Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
705					710					715					720	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
				725					730					735		

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
740 745 750

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
755 760 765

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
770 775 780

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
785 790 795 800

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
805 810 815

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
820 825 830

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
835 840 845

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
850 855 860

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gln Pro
865 870 875 880

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
885 890 895

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
900 905 910

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конструкция антитела, содержащая:
 первый домен, который связывается с ВСМА,
 второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или *Macaca*; и
 третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнир, домен СН2 и домен СН3, причем указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера.
2. Конструкция антитела по п. 1, отличающаяся тем, что конструкция антитела представляет собой одноцепочечную конструкцию антитела.
3. Конструкция антитела по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что указанный третий домен содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:
 шарнир-СН2-СН3-линкер-шарнир-СН2-СН3.
4. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что каждый из указанных полипептидных мономеров имеет аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.
5. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что каждый из указанных полипептидных мономеров имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.
6. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что домен СН2 содержит внутридоменный цистеиновый дисульфидный мостик.
7. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что
 - (i) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;
 - (ii) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;

(iii) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела; или

(iv) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела.

8. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что первый и второй домены слиты с третьим доменом посредством пептидного линкера.

9. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, содержащая в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

(a) первый домен;

(b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;

(c) второй домен;

(d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;

(e) первый полипептидный мономер третьего домена;

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй полипептидный мономер третьего домена.

10. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, содержащая в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

(a) первый домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53, 59, 71, 77, 89 или 95;

(b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;

(c) второй домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 из WO 2008/119567 или SEQ ID NO: 15;

(d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;

(e) первый полипептидный мономер третьего домена, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24;

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй полипептидный мономер третьего домена, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

11. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, имеющая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 55, 56, 61, 62, 73, 74, 79, 80, 91, 92, 97 и 98.

12. Полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, определенную в любом из предыдущих пунктов.

13. Вектор, содержащий полинуклеотид, определенный в п. 12.

14. Клетка-хозяин, трансформированная или трансфицированная полинуклеотидом, определенным в п. 12, или вектором, определенным в п. 13.

15. Способ получения конструкции антитела в соответствии с любым из пп. 1-11, включающий культивирование клетки-хозяина, определенной в п. 14, в условиях, делающих возможной экспрессию конструкции антитела, определенной в любом из пп. 1-11, и выделение полученной конструкции антитела из культуры.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию антитела по любому из пп. 1-11 или полученную в соответствии со способом по п. 15.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, которая является стабильной в течение по меньшей мере четырех недель при около - 20°C.

18. Конструкция антитела по любому из пп. 1-11 или полученная в соответствии со способом по п. 15 для применения в

предотвращении, лечении или уменьшении интенсивности заболевания, выбранного из В-клеточного нарушения, коррелирующего с экспрессией ВСМА, нарушения, связанного с плазматическими клетками, или аутоиммунного заболевания.

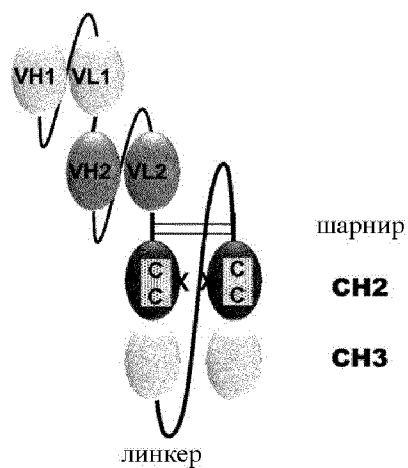
19. Способ лечения или уменьшения интенсивности В-клеточного нарушения, коррелирующего с экспрессией ВСМА, нарушения, связанного с плазматическими клетками, или аутоиммунного заболевания, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с любым из пп. 1-11 или полученной в соответствии со способом по п. 15.

20. Набор, содержащий конструкцию антитела в соответствии с любым из пп. 1-11 или полученную в соответствии со способом по п. 15, полинуклеотид, определенный в п. 12, вектор, определенный в п. 13, и/или клетку-хозяина, определенную в п. 14.

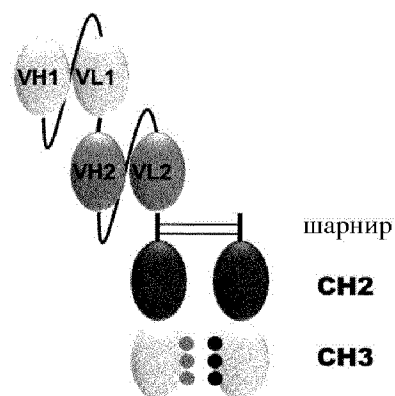
По доверенности

Фиг. 1

а) Биспецифическая одноцепочечная конструкция антитела на основе Fc



б) Биспецифическая конструкция антитела на основе гетеро-Fc

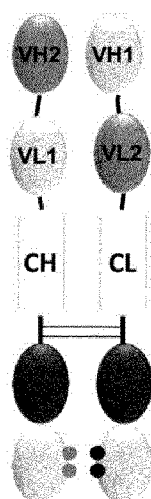


$\begin{matrix} \text{C} \\ \text{C} \end{matrix}$ = внутрицепочечная дисульфидная связь

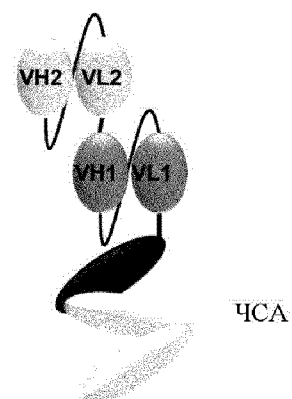
●● = Участки спаривания зарядов

X = Удаленный участок гликозилирования

с) Биспецифическая конструкция X-тела

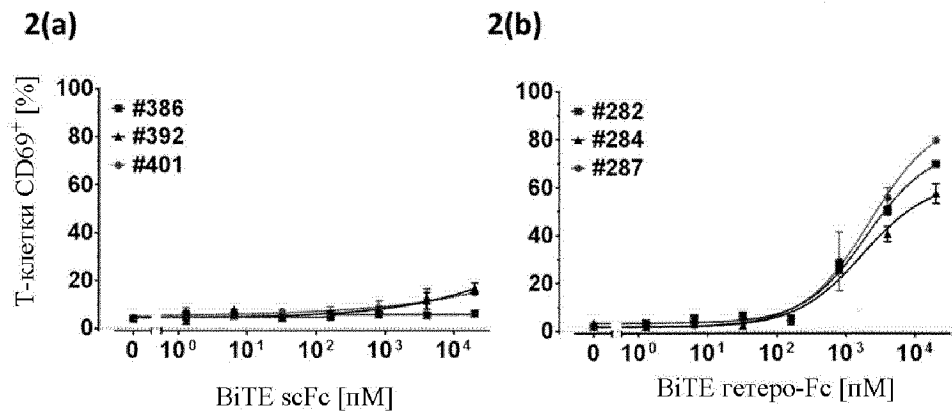


д) Биспецифическая конструкция, слитая с человеческим альбумином

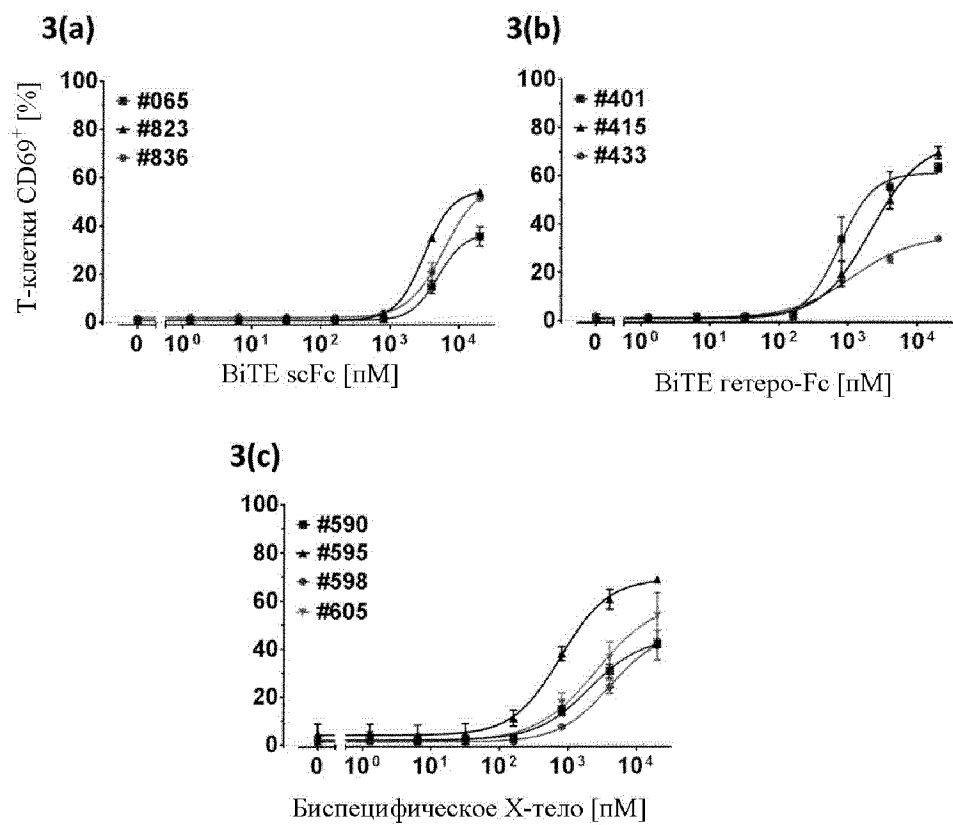


●● = Участки спаривания зарядов

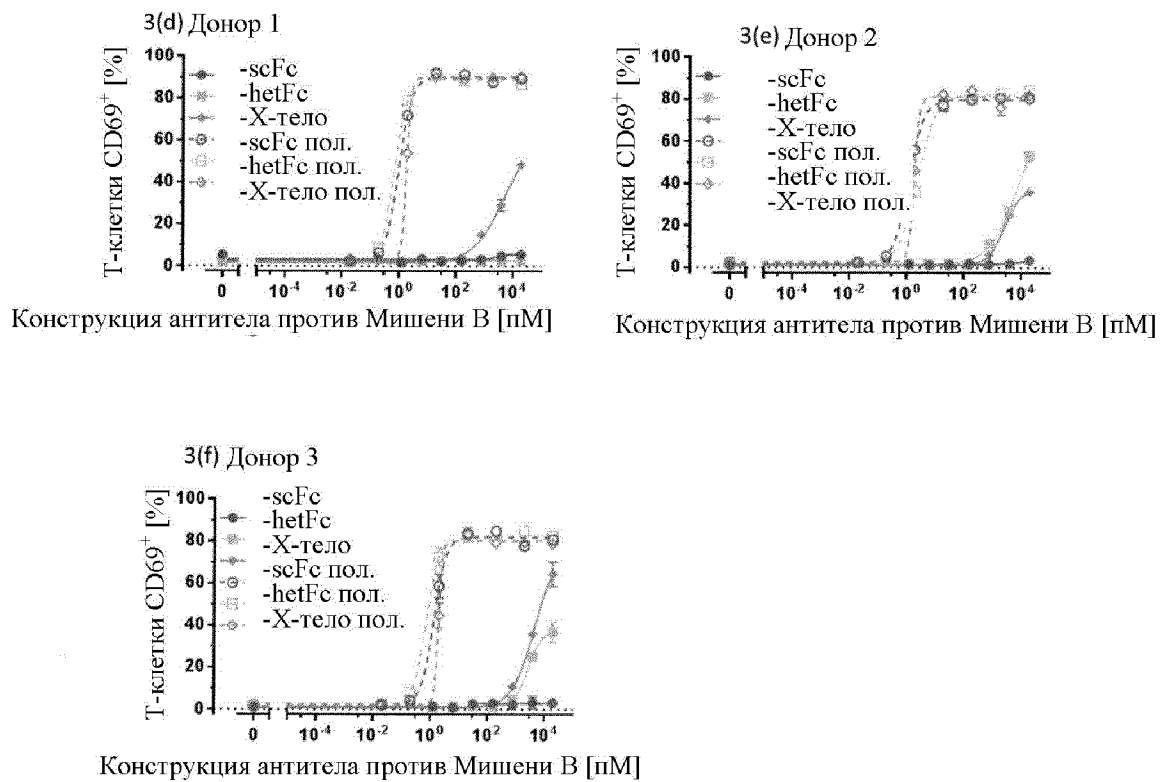
Фиг. 2



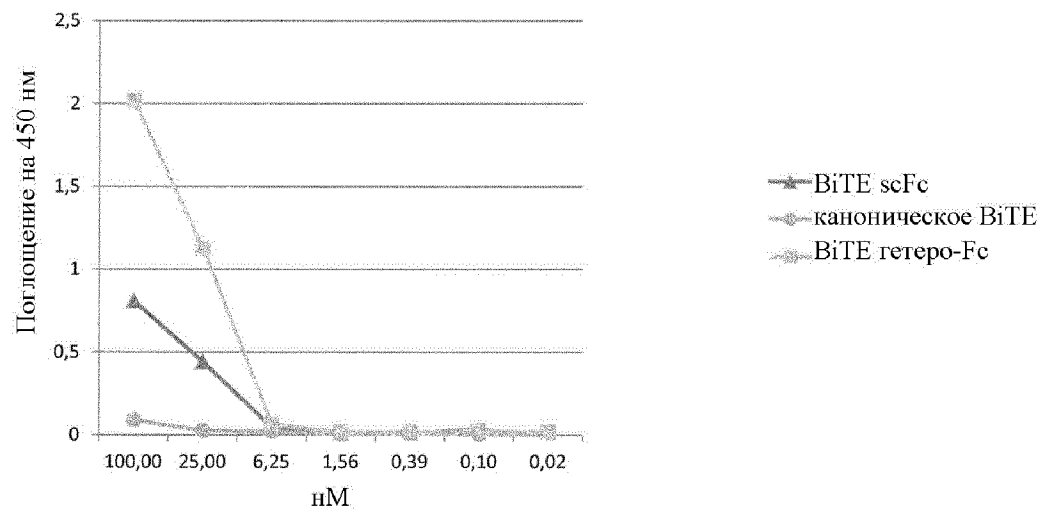
Фиг. 3



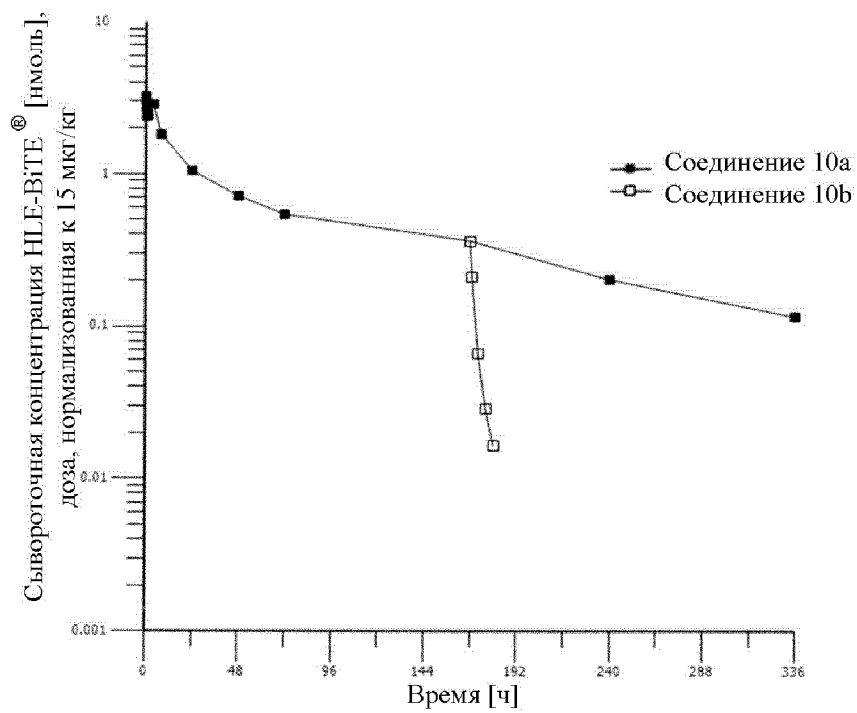
Фиг. 3 продолж.



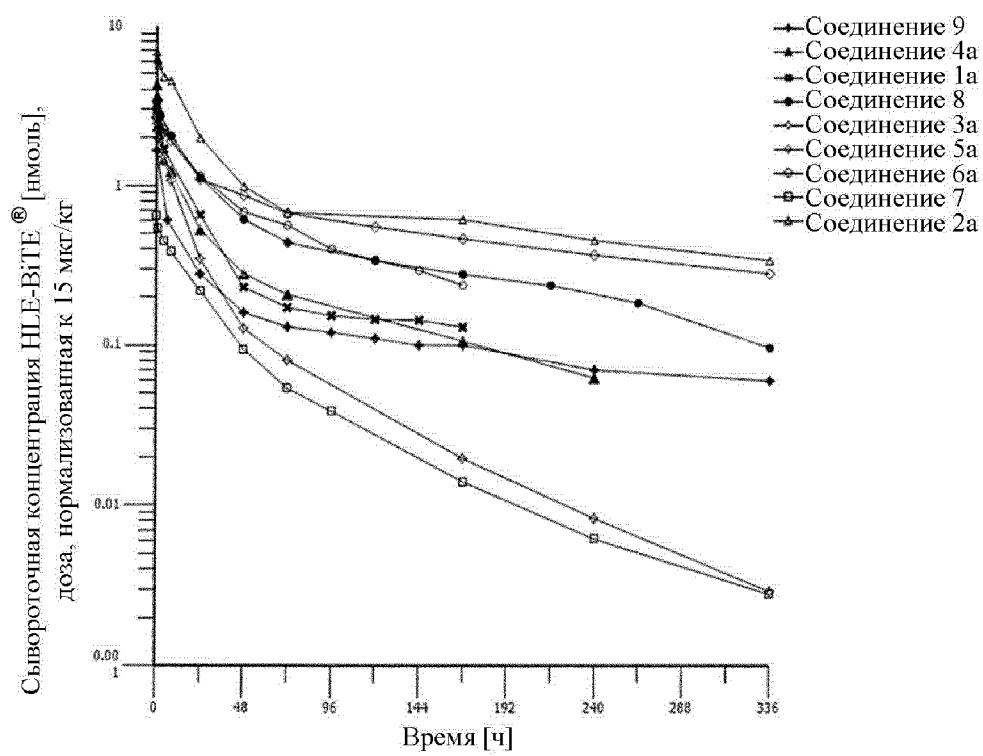
Фиг. 4



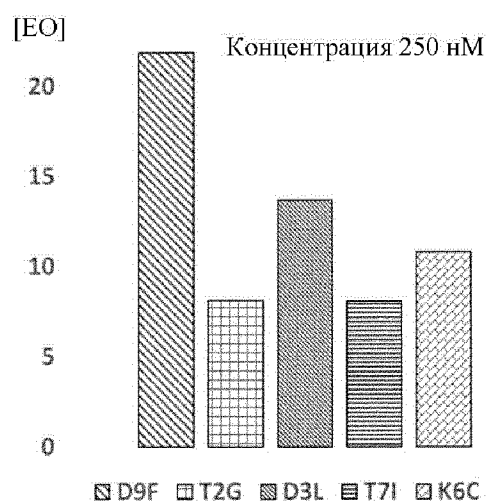
Фиг. 5



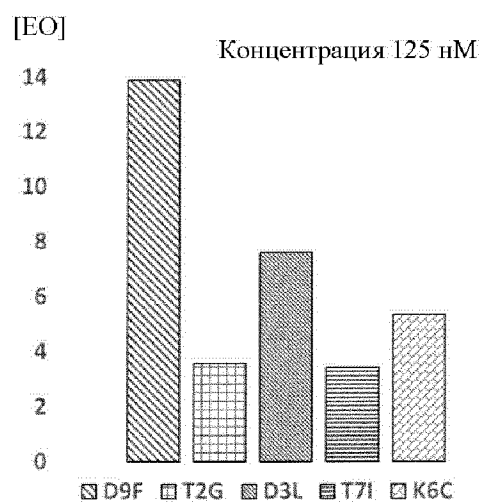
Фиг. 6



Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 9

