

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991168 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(22) Дата подачи заявки
2017.11.22

(51) Int. Cl. C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(54) БЕЛОК, СВЯЗЫВАЮЩИЙ ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ МЕМБРАННЫЙ АНТИГЕН

(31) 62/426,086

(32) 2016.11.23

(33) US

(86) PCT/US2017/063121

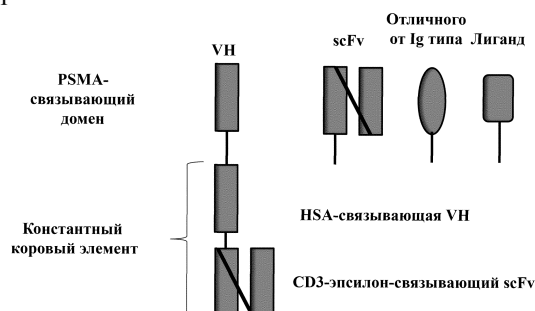
(87) WO 2018/098354 2018.05.31

(71) Заявитель:
ХАРПУН ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Дабридж Роберт, Сето Пуи (US),
Бауэрле Патрик (DE), Гуно Жанмари,
Веше Холгер, Лемон Брайан Д., Остин
Ричард Дж. (US)

(74) Представитель:
Строкова О.В., Глухарёва А.О., Лыу
Т.Н., Угрюмов В.М., Христофоров
А.А., Гизатуллина Е.М., Гизатуллин
Ш.Ф., Костюшенкова М.Ю., Лебедев
В.В., Парамонова К.В., Николаева
О.А. (RU)

(57) В настоящем документе раскрыты PSMA-связывающие белки с улучшенными показателями аффинности связывания и устойчивыми профилями агрегации. Также описаны полиспецифические связывающие белки, предусматривающие PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Также представлены фармацевтические композиции, содержащие раскрытые в настоящем документе связывающие белки, и способы применения таких составов.



201991168

A1

A1

201991168

БЕЛОК, СВЯЗЫВАЮЩИЙ ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ МЕМБРАННЫЙ АНТИГЕН

ОПИСАНИЕ

Перекрестные ссылки на родственные заявки

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 62/426086, поданной 23 ноября 2016 года, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Перечень последовательностей

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII, и он включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная копия ASCII, созданная 22 ноября 2017 года, имеет название 47517-707_601_SL.txt, и ее размер составляет 148650 байт.

Включение посредством ссылки

[0003] Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящий документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были конкретно и индивидуально указаны для включения посредством ссылки, и как если бы они были изложены в их полном объеме.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0004] Настоящее раскрытие относится к белку, связывающему простатический специфический мембранный антиген (prostate specific membrane antigen, PSMA), который можно применять для диагностики и лечения заболеваний предстательной железы и других симптомов, связанных с экспрессией PSMA.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

[0005] Согласно одному варианту осуществления в настоящем документе представлен белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген (PSMA), содержащий определяющие комплементарность области CDR1, CDR2 и CDR3, причем

(a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в RFMISX1YX2MH (SEQ ID NO: 1);

(b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG (SEQ ID NO: 2); и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в DX₇YGY (SEQ ID NO: 3). Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает нижеследующую формулу: f₁-r₁-f₂-r₂-f₃-r₃-f₄, причем r₁ представляет собой SEQ ID NO: 1; r₂ представляет собой SEQ ID NO: 2; и r₃ представляет собой SEQ ID NO: 3; и причем f₁, f₂, f₃ и f₄ являются каркасными остатками, выбранными таким образом, чтобы указанный белок был по меньшей мере на восемьдесят процентов идентичным аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления X₁ представляет собой пролин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления X₄ представляет собой лизин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₅ представляет собой глутамин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₆ представляет собой тирозин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления X₁ представляет собой пролин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₅ представляет собой глутамин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₆ представляет собой тирозин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₁ представляет собой пролин, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₅ представляет собой глутамин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₆ представляет собой тирозин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым

вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления г1 предусматривает SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам осуществления г2 предусматривает SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам осуществления

г3 предусматривает SEQ ID NO: 15.

[0006] Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к белку, связывающему простатический специфический мембранный антиген, содержащему CDR1, CDR2 и CDR3, предусматривающие последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4, причем один или несколько аминокислотных остатков, выбранных из положений аминокислот 31, 33, 50, 55, 56, 62 и 97, заменены. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает одну или несколько дополнительных замен в положениях аминокислот, отличных от положений 31, 33, 50, 55, 56, 62 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 31. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 33. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 50. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 55. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 56. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 62. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замену в положении 97. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 55 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления

белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 33 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 33, 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 31, 33, 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 33, 50, 55 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 33, 50, 56 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок предусматривает замены в положениях аминокислот 33, 50, 62 и 97.

[0007] Еще один вариант осуществления относится к белку, связывающему простатический специфический мембранный антиген, содержащему CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR1 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16. Один вариант осуществления относится к белку, связывающему простатический специфический мембранный антиген, содержащему CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR2 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17. Дополнительный вариант осуществления относится к белку, связывающему простатический специфический мембранный антиген, содержащему CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR3 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18. Согласно одному варианту осуществления представлен белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4. Согласно одному варианту осуществления представлен белок, связывающий простатический специфический

мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR1 характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью с SEQ ID NO: 16, CDR2 характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью с SEQ ID NO: 17 и CDR3 характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью с SEQ ID NO: 18.

[0008] Другой вариант осуществления относится к белку, связывающему простатический специфический мембранный антиген, содержащему CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR1 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, CDR2 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, и CDR3 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, связывается с одним или обоими из простатического специфического мембранного антигена человека и простатического специфического мембранного антигена яванского макака. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок связывается с простатическим специфическим мембранным антигеном человека и простатическим специфическим мембранным антигеном яванского макака со сравнимыми показателями аффинности связывания. Согласно некоторым вариантам осуществления связывающий белок связывается с простатическим специфическим мембранным антигеном человека с более высокой аффинностью связывания, чем с простатическим специфическим мембранным антигеном яванского макака.

[0009] Другой вариант осуществления относится к полинуклеотиду, кодирующему PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Еще один вариант осуществления относится к вектору, содержащему полинуклеотид, кодирующий PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Согласно другому варианту осуществления представлена клетка-хозяин, трансформированная вектором. Согласно другому варианту осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая (i) PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием, полинуклеотид в соответствии с настоящим раскрытием, вектор в соответствии с настоящим раскрытием или клетку-хозяина в соответствии с настоящим раскрытием и (ii) фармацевтически приемлемый носитель. Другой вариант осуществления относится к способу получения PSMA-связывающего белка в соответствии с настоящим раскрытием, причем указанный способ предусматривает культивирование хозяина, трансформированного или трансфицированного вектором, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую белок, связывающий PSMA и альбумин, в соответствии с настоящим раскрытием в условиях, обеспечивающих

экспрессию PSMA-связывающего белка, и извлечение и очистку продуцированного белка из культуры.

Согласно одному варианту осуществления представлен способ лечения или облегчения течения пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, воспалительного заболевания, иммунологического нарушения, аутоиммунного заболевания, инфекционного заболевания, вирусного заболевания, аллергической реакции, реакции на паразитарную инвазию, реакции «трансплантат против хозяина» или реакции «хозяин против трансплантата», предусматривающий введение PSMA-связывающего белка в соответствии с настоящим раскрытием нуждающемуся в этом субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления субъектом является человек. Согласно некоторым вариантам осуществления способ дополнительно предусматривает введение средства в комбинации с PSMA-связывающим белком в соответствии с настоящим раскрытием.

[0010] Один вариант осуществления относится к полиспецифическому связывающему белку, предусматривающему PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Еще один вариант осуществления относится к антителу, предусматривающему PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Согласно одному варианту осуществления представлено полиспецифическое антитело, биспецифическое антитело, sdAb, переменный домен тяжелой цепи, пептид или лиганд, предусматривающие PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Согласно одному варианту осуществления представлено антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием, где указанное антитело представляет собой однодоменное антитело. Согласно некоторым вариантам осуществления однодоменное антитело происходит из переменной области тяжелой цепи IgG. Еще один вариант осуществления относится к полиспецифическому связывающему белку или антителу, предусматривающим PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Согласно одному варианту осуществления представлен способ лечения или облегчения течения пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, воспалительного заболевания, иммунологического нарушения, аутоиммунного заболевания, инфекционного заболевания, вирусного заболевания, аллергической реакции, реакции на паразитарную инвазию, реакции «трансплантат против хозяина» или реакции «хозяин против трансплантата», предусматривающий введение полиспецифического антитела в соответствии с настоящим раскрытием нуждающемуся в этом субъекту. Согласно еще одному варианту осуществления представлен способ лечения или облегчения течения заболевания предстательной железы, предусматривающий введение полиспецифического антитела в соответствии с настоящим раскрытием нуждающемуся в

этом субъекту. Другой вариант осуществления относится к способу лечения или облегчения течения заболевания предстательной железы, предусматривающему введение PSMA-связывающего белка в соответствии с любым из вышеописанных вариантов осуществления нуждающемуся в этом субъекту. Еще один вариант осуществления относится к способу лечения или облегчения течения заболевания предстательной железы, предусматривающему введение PSMA-связывающего белка в соответствии с настоящим раскрытием нуждающемуся в этом субъекту.

[0011] Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает любую комбинацию нижеследующего: (i) причем X_1 представляет собой пролин; (ii) причем X_2 представляет собой гистидин; (iii) причем X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту; (iv) причем X_4 представляет собой лизин; (v) причем X_5 представляет собой глутамин; (vi) причем X_6 представляет собой тирозин; и (vii) причем X_7 представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления белок вышеописанного варианта осуществления, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает любую комбинацию нижеследующего: (i) причем X_1 представляет собой пролин; причем X_5 представляет собой глутамин; (ii) причем X_6 представляет собой тирозин; причем X_4 представляет собой лизин и X_7 представляет собой серин; (iii) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_4 представляет собой лизин и X_7 представляет собой серин; (iv) причем X_1 представляет собой пролин, X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту и X_7 представляет собой серин; (v) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_5 представляет собой глутамин и X_7 представляет собой серин; (vi) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_4 представляет собой лизин и X_7 представляет собой серин; (vii) причем X_1 представляет собой пролин, X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту и X_7 представляет собой серин; (viii) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_5 представляет собой глутамин и X_7 представляет собой серин; (ix) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_6 представляет собой тирозин и X_7 представляет собой серин; и (x) причем X_2 представляет

собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту и X_7 представляет собой серин. В некоторых случаях белок вышеописанного варианта осуществления, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях белок вышеописанного варианта осуществления, связывающий простатический специфический мембранный антиген, также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает любую комбинацию нижеследующего: (i) замена в положении 31; (ii) замена в положении 50; (iii) замена в положении 55; замена в положении 56; (iv) замена в положении 62; (v) замена в положении 97; (vi) замены в положениях 55 и 97; (vii) замены в положениях 33 и 97; (viii) замены в 33, 50 и 97; (ix) замены в положениях 31, 33, 50 и 97; (x) замены в положениях 33, 50, 55 и 97; (xi) замены в положениях 33, 50, 56 и 97; и (xiii) замены в положениях 33, 50, 62 и 97. В некоторых случаях белок вышеописанного варианта осуществления, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях белок вышеописанного варианта осуществления, связывающий простатический специфический мембранный антиген, также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

[0012] Один вариант осуществления относится к способу лечения или облегчения течения рака предстательной железы, причем способ предусматривает введение PSMA-связывающего белка, содержащего определяющие комплементарность области CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в RFMISX₁YX₂MH (SEQ ID NO: 1); (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG (SEQ ID NO: 2); и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в DX₇YGY (SEQ ID NO: 3), нуждающемуся в этом субъекту.

[0013] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой однодоменное антитело. Согласно некоторым вариантам осуществления указанное однодоменное антитело является частью триспецифического антитела.

Краткое описание чертежей

[0014] Новые признаки настоящего изобретения подробно изложены в прилагаемой формуле изобретения. Лучшее понимание признаков и преимуществ настоящего изобретения будет обеспечено со ссылкой на следующее подробное описание, в котором изложены иллюстративные варианты осуществления, в которых используются принципы настоящего изобретения, и прилагаемые чертежи, в числе которых:

[0015] **Фиг. 1** представляет собой схематическое представление иллюстративного PMSA-нацеленного триспецифического антигенсвязывающего белка, где белок содержит константный коровый элемент, предусматривающий CD3ε-связывающий одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) и HSA-связывающую переменную область тяжелой цепи; и PMSA-связывающий домен, который может представлять собой VH, scFv, связывающую молекулу отличного от Ig типа или лиганд.

[0016] На **фигурах 2A-B** представлено сравнение способности иллюстративных PSMA-нацеленных триспецифических белков (PSMA-нацеленных молекул TriTAC) с разными показателями аффинности в отношении CD3 индуцировать Т-клетки к уничтожению клеток рака предстательной железы человека. На **фиг. 2A** показаны результаты по уничтожению, обусловленному разными PMSA-нацеленными молекулами TriTAC в модели рака предстательной железы LNCaP. На **фиг. 2B** показаны результаты по уничтожению, обусловленному разными PMSA-нацеленными молекулами TriTAC в модели рака предстательной железы 22Rv1. На **фиг. 2C** показаны значения EC50 для PMSA-нацеленных TriTAC в моделях рака предстательной железы LNCaP и 22Rv1.

[0017] На **фиг. 3** показана концентрация в сыворотке крови PSMA-нацеленной TriTAC C236 у яванских макаков после i.v. введения (100 мкг/кг) в течение трех недель.

[0018] На **фиг. 4** показана концентрация в сыворотке крови PSMA-нацеленных молекул TriTAC с разными показателями аффинности в отношении CD3 у яванских макаков после i.v. введения (100 мкг/кг) в течение трех недель.

[0019] На **фигурах 5A-C** показана способность PSMA-нацеленных молекул TriTAC с разными показателями аффинности в отношении PSMA индуцировать Т-клетки к уничтожению клеточной линии рака предстательной железы человека LNCaP. На **фиг. 5A** показаны результаты эксперимента, осуществляемого в отсутствие сывороточного

альбумина человека, с PSMA-нацеленной BiTE в качестве положительного контроля. На **фиг. 5B** показаны результаты эксперимента, осуществляемого в присутствии сывороточного альбумина человека, с PSMA-нацеленной BiTE в качестве положительного контроля. На **фиг. 5C** показаны значения EC50 для PSMA-нацеленной TriTAC в присутствии или в отсутствие HSA, с PSMA-нацеленной BiTE в качестве положительного контроля, в моделях рака предстательной железы LNCaP.

[0020] На **фиг. 6** продемонстрирована способность PSMA-нацеленных молекул TriTAC ингибировать опухолевый рост клеток рака предстательной железы человека в эксперименте по ксенотрансплантации у мыши.

[0021] На **фигурах 7A-D** проиллюстрирована специфичность молекул TriTAC в анализах уничтожения клеток с использованием линий клеток-мишеней, которые экспрессируют или не экспрессируют белок-мишень. На **фиг. 7A** показаны результаты экспрессии EGFR и PSMA в клеточных линиях LNCaP, KMS12BM и OVCAR8. На **фиг. 7B** показаны результаты по уничтожению опухолевых клеток LNCaP, обусловленному PSMA-нацеленными, EGFR-нацеленными TriTAC и TriTAC в качестве отрицательного контроля. На **фиг. 7C** показаны результаты по уничтожению опухолевых клеток KMS12BM, обусловленному PSMA-нацеленными, EGFR-нацеленными TriTAC и TriTAC в качестве отрицательного контроля. На **фиг. 7D** показаны результаты по уничтожению клеток OVCAR8, обусловленному PSMA-нацеленными, EGFR-нацеленными TriTAC и TriTAC в качестве отрицательного контроля.

[0022] На **фигурах 8A-D** показано влияние предварительной инкубации при 37°C и циклов заморозания-оттаивания на активность TriTAC. На **фиг. 8A** показана активность PSMA TriTAC C235 после предварительной инкубации при 37°C или циклов заморозания-оттаивания. На **фиг. 8B** показана активность PSMA TriTAC C359 после предварительной инкубации при 37°C или циклов заморозания-оттаивания. На **фиг. 8C** показана активность PSMA TriTAC C360 после предварительной инкубации при 37°C или циклов заморозания-оттаивания. На **фиг. 8D** показана активность PSMA TriTAC C361 после предварительной инкубации при 37°C или циклов заморозания-оттаивания.

[0023] На **фигурах 9A-B** показана активность PSMA-нацеленной молекулы TriTAC по настоящему раскрытию в анализах уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками посредством зависимой от Т-клеток клеточной цитотоксичности (TDCC). На **фиг. 9A** показано влияние PSMA-нацеленной молекулы TriTAC на перенаправление моноклеарных клеток периферической крови (PBMC) яванского макака, от донора-яванского макака G322, на уничтожение клеток LNCaP. На **фиг. 9B** показано влияние

PSMA-нацеленной молекулы TriTAC на перенаправление PBMC яванского макака, от донора-яванского макака D173, на уничтожение клеток MDAPCa2b.

[0024] На **фиг. 10** показано влияние PSMA-нацеленной молекулы TriTAC по настоящему раскрытию на экспрессию маркеров активации Т-клеток CD25 и CD69.

[0025] На **фиг. 11** показана способность PSMA-нацеленной молекулы TriTAC по настоящему раскрытию стимулировать пролиферацию Т-клеток в присутствии экспрессирующих PSMA клеток-мишеней.

[0026] На **фиг. 12** показаны результаты по уничтожению перенаправленными Т-клетками клеток LnCaP, обусловленному PSMA-нацеленной молекулой TriTAC PSMA Z2 TriTAC (SEQ ID NO: 156).

Подробное раскрытие настоящего изобретения

[0027] Хотя в настоящем документе были показаны и описаны предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения, для специалистов в данной области будет очевидно, что такие варианты осуществления приведены исключительно в качестве примера. Многочисленные вариации, изменения и замены будут приходить на ум специалистам в данной области без отступления от настоящего изобретения. Следует понимать, что при применении настоящего изобретения на практике можно использовать различные альтернативы описанным в настоящем документе вариантам осуществления настоящего изобретения. Подразумевается, что нижеследующая формула изобретения определяет объем настоящего изобретения, и что способы и структуры в пределах объема этой формулы изобретения и их эквиваленты также охватываются ею.

Некоторые определения

[0028] Применяемая в настоящем документе терминология предназначена только для описания конкретных случаев и не предназначена для ограничения. Подразумевается, что в контексте настоящего документа формы единственного числа включают также формы множественного числа, если контекстом явно не указано иное. Кроме того, в том смысле, в котором термины «включая», «включает», «имеющий», «имеет», «с» или их варианты применяют или в подробном описании, и/или формуле изобретения, подразумевается, что такие термины являются включительными, аналогично термину «содержащий».

[0029] Термин «приблизительно» или «примерно» означает, что конкретное значение находится в приемлемом диапазоне погрешностей, как определено специалистом в данной области, и значение частично будет зависеть от того, каким образом измеряется или определяется значение, например, ограничений системы измерений. Например, «приблизительно» может означать в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения в

соответствии с практикой в данной области. В случае, когда в заявке или формуле изобретения описаны конкретные значения, термин «приблизительно» следует рассматривать как предусматривающий приемлемый диапазон погрешностей для такого конкретного значения, если не указано иное.

[0030] Термины «индивидуум», «пациент» или «субъект» применяются взаимозаменяемо. Ни один из терминов не предусматривает необходимость или не ограничен ситуацией, характеризующейся наблюдением (например, постоянным или периодическим) медицинским работником (например, врачом, дипломированной медсестрой, практикующей медсестрой, помощником врача, санитаром или работником хосписа).

[0031] Термин «каркасные» или «FR»-остатки (или области) относятся к остаткам переменного домена, отличным от остатков CDR или гиперпеременной области, как определено в настоящем документе. «Консенсусная каркасная область человека» представляет собой каркасную область, которая предусматривает наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки при отборе каркасных последовательностей VL или VH иммуноглобулинов человека.

[0032] В контексте настоящего документа «переменная область» или «переменный домен» относится к тому факту, что определенные участки переменных доменов сильно различаются по последовательности среди антител, и они ответственны за связывание и специфичность каждого конкретного антитела в отношении его конкретного антигена. Однако переменность неравномерно распределена по переменным доменам антител. Она сконцентрирована в трех сегментах, называемых определяющими комплементарность областями (CDR) или гиперпеременными областями, находящимися в пределах переменных доменов как легкой цепи, так и тяжелой цепи. Наиболее консервативные участки переменных доменов называют каркасными (FR). Каждый из переменных доменов нативных тяжелых и легких цепей содержит четыре FR-области, преимущественно принимающие конфигурацию β -листа, соединенные тремя CDR, которые образуют петли, соединяющие, и, в некоторых случаях, образующие часть структуры β -листа. CDR в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости посредством FR-областей и, вместе с CDR из другой цепи, способствуют образованию антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, пятое издание, Национальный институт здравоохранения, Бетесда, Мэриленд. (1991)). Константные домены непосредственно не вовлечены в связывание антитела с антигеном, но они проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности. Выражение «нумерация остатков

вариабельного домена по Kabat» или «нумерация положений аминокислот по Kabat», и его вариации, относится к системе нумерации, применяемой для вариабельных доменов тяжелой цепи или вариабельных доменов легкой цепи компиляции антител в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5-е издание, Служба общественного здравоохранения, Национальные институты здравоохранения, Бетесда, Мэриленд. (1991). С применением этой системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество аминокислот или дополнительные аминокислоты в соответствии с укорочением FR или CDR вариабельного домена, или осуществляемой в них вставкой. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может включать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Kabat) после остатка 52 H2 и вставленные остатки (например, остатки 82a, 82b и 82c и т. д. в соответствии с Kabat) после остатка 82 FR тяжелой цепи. Нумерация остатков по Kabat может быть определена для данного антитела путем выравнивания по областям гомологии последовательности антитела со «стандартной» пронумерованной по Kabat последовательностью. Не предполагается, что CDR по настоящему раскрытию обязательно соответствуют правилам нумерации по Kabat.

[0033] В контексте настоящего документа термин «процентная (%) идентичность аминокислотных последовательностей» по отношению к последовательности определяется как процентная доля аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые являются идентичными аминокислотным остаткам в конкретной последовательности после осуществления выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, с достижением максимальной процентной идентичности последовательностей, и не учитывая какие-либо консервативные замены как часть идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процентной идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществлять различными способами, известными в данной области, к примеру, с применением имеющегося в открытом доступе компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение EMBOSS MATCHER, EMBOSS WATER, EMBOSS STRETCHER, EMBOSS NEEDLE, EMBOSS LALIGN, BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области смогут определить соответствующие параметры для проведения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для обеспечения максимального выравнивания по всей длине последовательностей, подлежащих сравнению.

[0034] В контексте настоящего документа термин «период полувыведения» применяется в его обычном значении, как описано в *Goodman and Gillman's The*

Pharmaceutical Basis of Therapeutics 21-25 (под ред. Alfred Goodman Gilman, Louis S. Goodman, and Alfred Gilman, 6-е издание, 1980). Вкратце, указанный термин охватывает количественное измерение времени выведения лекарственного средства. Выведение большинства лекарственных средств является экспоненциальным (т. е. соответствует кинетике первого порядка), поскольку концентрации лекарственного средства обычно не достигают таковых, требуемых для насыщения процесса выведения. Скорость экспоненциального процесса может быть выражена его константой скорости k , которая выражает относительное изменение за единицу времени, или его полупериодом $t_{1/2}$, промежутком времени, необходимым для 50% завершения процесса. Единицами этих двух констант являются время^{-1} и время соответственно. Константа скорости первого порядка и полупериод реакции связаны простым соотношением ($k \times t_{1/2} = 0,693$), и могут соответственно быть взаимозаменяемыми. Поскольку кинетика выведения первого порядка предусматривает, что постоянная доля лекарственного средства теряется за единицу времени, график зависимости логарифма концентрации лекарственного средства от времени является линейным во все моменты времени после начальной фазы распределения (т. е. после всасывания лекарственного средства и завершения распределения). Полупериод выведения лекарственного средства может быть точно определен из такого графика.

[0035] В контексте настоящего документа термин «аффинность связывания» относится к аффинности описанных в настоящем раскрытии белков в отношении их мишеней связывания, и численно выражается с применением значений « K_d ». Если указано, что два или более белков характеризуются сравнимыми показателями аффинности связывания в отношении их мишеней связывания, то значения K_d связывания соответствующих белков в отношении их мишеней связывания находятся в диапазоне ± 2 -кратной разницы по отношению друг к другу. Если указано, что два или более белков характеризуются сравнимыми показателями аффинности связывания в отношении одной мишени связывания, то значения K_d связывания соответствующих белков в отношении указанной одной мишени связывания находятся в диапазоне ± 2 -кратной разницы по отношению друг к другу. Если указано, что белок связывается с двумя или более мишенями со сравнимыми показателями аффинности связывания, то значения K_d связывания указанного белка с двумя или более мишенями находятся в диапазоне ± 2 -кратной разницы по отношению друг к другу. В целом, более высокое значение K_d соответствует более слабому связыванию. Согласно некоторым вариантам осуществления « K_d » измеряют с помощью анализа связывания меченного радиоактивным изотопом антигена (RIA) или анализов на основе явления поверхностного плазмонного резонанса с применением BIAcore™-2000 или BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Пискатауэй, Нью-Джерси). Согласно

определенным вариантам осуществления «скорость прямой реакции», или «скорость ассоциации», или «скорость образования комплекса», или «kon», и «скорость обратной реакции», или «скорость диссоциации», или «скорость распада комплекса», или «koff», также определяют с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса с применением BIAcore™-2000 или BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Пискатауэй, Нью-Джерси). Согласно дополнительным вариантам осуществления «Kd», «kon» и «koff» измеряют с применением систем OCTET® (Pall Life Sciences). Согласно иллюстративному способу измерения аффинности связывания с применением систем OCTET®, лиганд, например, биотинилированный PSMA человека или яванского макака, иммобилизуют на поверхности кончика микрожидкостного сенсора с иммобилизованным стрептавидином OCTET®, при этом кончики с иммобилизованным стрептавидином затем активируют в соответствии с инструкциями производителя с применением приблизительно 20-50 мкг/мл белка PSMA человека или яванского макака. Также включен раствор PBS/казеин в качестве блокирующего средства. Для измерений параметров кинетики ассоциации варианты PSMA-связывающего белка вводят в концентрации в диапазоне от приблизительно 10 мкг/мл до приблизительно 1000 мкг/мл. Полная диссоциация наблюдается в случае отрицательного контроля, буфера для анализа без связывающих белков. Параметры кинетики реакций связывания затем определяют с применением соответствующего инструмента, например, программного обеспечения ForteBio.

[0036] В настоящем документе описаны PSMA-связывающие белки, фармацевтические композиции, а также нуклеиновые кислоты, рекомбинантные векторы экспрессии и клетки-хозяева для получения таких PSMA-связывающих белков. Также представлены способы применения раскрытых PSMA-связывающих белков в предупреждении и/или лечении заболеваний, состояний и нарушений. PSMA-связывающие белки способны к специфическому связыванию с PSMA. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающие белки включают дополнительные домены, такие как CD3-связывающий домен.

Простатический специфический мембранный антиген (PSMA) и его роль в развитии заболеваний предстательной железы

[0037] В настоящем документе предусмотрены белки, связывающие простатический специфический мембранный антиген. Простатический специфический мембранный антиген (PSMA), также известный как глутаматкарбоксипептидаза II, N-ацетил- α -связанная кислая дипептидаза I [Naalad-аза (NLD) I] или фолатгидролаза, представляет собой трансмембранный гликопротеин типа II из 750 остатков, который, как было обнаружено, на высоком уровне экспрессирован в клетках рака предстательной

железы и новообразованных сосудах солидной опухоли вне предстательной железы, и экспрессирован на низких уровнях в других тканях, включая здоровую предстательную железу, почку, печень, тонкий кишечник, тонкую кишку, слюнную железу, слизистую оболочку двенадцатиперстной кишки, проксимальные канальцы почки и головной мозг. PSMA является членом суперсемейства цинк-зависимых экзопептидаз, которые включают карбоксипептидазы с одноядерным цинк-содержащим активным центром (например, карбоксипептидаза А) и карбокси- и аминопептидазы с двоядерным цинк-содержащим активным центром [например, карбоксипептидаза G2 (CPG2), пептидазы Т и V (PepT и PepV), аминопептидаза *Streptomyces griseus* (Sgap) и аминопептидаза *Aeromonas proteolytica* (AAP)]. Помимо ограниченной области гомологии с этими растворимыми однодоменными (например, AAP) или двудоменными (например, CPG2) цинк-зависимыми экзопептидазами, полная последовательность PSMA является гомологичной по меньшей мере четырем другим белкам человека: NLDL (экспрессируемый в подвздошной кишке; 35% идентичность), NLD2 (экспрессируемый в яичнике, яичке и головном мозге; 67% идентичность), рецептор 1 трансферрина (TfR) (TfR1; экспрессируемый в большинстве типов клеток; 26% идентичность) и TfR2 (экспрессируемый преимущественно в печени; 28% идентичность).

[0038] На основе кристаллической структуры PSMA было показано, что он предусматривает симметричный димер, причем каждая полипептидная цепь в нем содержит три домена, аналогичные трем доменам TfR1: протеазный домен, апикальный домен и спиральный домен. Крупная полость ($\approx 1100 \text{ \AA}^2$) на границе контакта между тремя доменами включает двоядерный цинк-содержащий центр и преимущественно полярные остатки (66% 70 остатков). Обнаружение наличия двух ионов цинка и консервативности множества образующих полость остатков среди ортологов и гомологов PSMA позволяет идентифицировать полость как вероятный субстрат-связывающий центр.

[0039] Как правило, уровень экспрессии PSMA повышается при прогрессировании заболевания предстательной железы и метастазировании. Уровень экспрессии PSMA повышен при раке предстательной железы, особенно при низкодифференцированных, метастатических и гормонально-рефрактерных формах карциномы. PSMA также экспрессируется в эндотелиальных клетках капилляров в окружающих опухоль и внутриопухолевых областях при определенных злокачественных новообразованиях, включая формы почечно-клеточной карциномы и формы карциномы толстой кишки, но не в кровеносных сосудах нормальных тканей. Кроме того, сообщалось, что PSMA ассоциирован с ангиогенезом опухоли. Было продемонстрировано, что PSMA экспрессируется в эндотелиальных клетках опухоли-ассоциированных новообразованных

сосудов при формах карциномы толстой кишки, молочной железы, мочевого пузыря, поджелудочной железы, почки и при меланоме.

[0040] Помимо его роли как онкомаркера, PSMA содержит двуядерный цинк-содержащий центр и функционирует как глутаматкарбоксипептидаза, катализируя гидролиз α - или γ -связанных остатков глутаминовой кислоты из пептидов или малых молекул. Его субстраты включают поли- γ -глутаматные формы фолатов, которые являются незаменимыми питательными веществами, и поли- γ -глутаматную форму противоракового лекарственного средства метотрексата, и в этом случае расщепление делает его менее эффективным. Ферментативная активность PSMA может быть использована для конструирования пролекарств, в которых неактивная глутаматная форма лекарственного средства подвергается избирательному расщеплению и тем самым активируется исключительно в отношении клеток, которые экспрессируют PSMA. PSMA также расщепляет и инактивирует избыточный нейропептид N-ацетил-l-аспартил-l-глутамат (α -NAAG), который является ингибитором ионотропного рецептора NMDA и агонистом метаботропного глутаматного рецептора 3 II группы. Нарушение регуляции глутаматергической нейротрансмиссии посредством α -NAAG связано с шизофренией, судорожными приступами, болезнью Альцгеймера, болезнью Хантингтона и боковым амиотрофическим склерозом. Таким образом, ингибирование PSMA потенциально обеспечивает нейропротекцию как за счет снижения глутамата, так и за счет повышения α -NAAG. Например, было показано, что субнанолярный ингибитор 2-(фосфонметил)глутаровая кислота обеспечивает нейропротекцию в культуре клеток и/или в моделях ишемии, диабетической невропатии, лекарственной зависимости, хронической боли и бокового амиотрофического склероза у животных.

[0041] Рак предстательной железы является наиболее распространенным видом рака и одной из основных причин смерти от рака у американских мужчин. Число мужчин с диагнозом рак предстательной железы постоянно увеличивается в результате увеличения популяции пожилых мужчин, а также повышения информированности о заболевании, что приводит к более раннему определению диагноза. Риск в течение жизни развития рака предстательной железы у мужчин составляет приблизительно 1 из 5 для европейцев, 1 из 6 афроамериканцев. В группах риска находятся лица со случаями рака предстательной железы в семье или афроамериканцы. В течение жизни более двух третей мужчин с диагнозом рак предстательной железы умирают от этого заболевания. Кроме того, для многих пациентов, которые не умерли от рака предстательной железы, требуется постоянное лечение для уменьшения интенсивности таких симптомов, как боль, кровотечение и непроходимость мочевых путей. Таким образом, рак предстательной

железы также является основной причиной страданий и увеличения расходов на здравоохранение. В тех случаях, когда рак предстательной железы локализован и ожидаемая продолжительность жизни пациента составляет 10 и более лет, радикальная простатэктомия дает наилучшие шансы для устранения заболевания. Как показывает опыт, недостатком этой процедуры является то, что большинство форм рака уже успевают распространиться за пределы оперируемого участка к тому времени, когда они были обнаружены. Пациенты с опухолями высокой степени злокачественности и массивным поражением лимфатических узлов с меньшей вероятностью будут успешно вылечены с помощью радикальной простатэктомии. Лучевая терапия также широко применяется в качестве альтернативы радикальной простатэктомии. В целом пациенты, которые подвергаются лечению лучевой терапией, являются пациентами старшего возраста и менее здоровыми пациентами, и таковыми с более запущенными с клинической точки зрения опухолями более высокой степени злокачественности. Особенно предпочтительными процедурами являются дистанционная лучевая терапия, которая включает трехмерную конфокальную лучевую терапию, при которой поле облучения рассчитано в соответствии с объемом подлежащей лечению ткани; внутритканевая лучевая терапия, при которой зерна радиоактивных соединений имплантируют с применением ультразвукового наведения; и сочетание дистанционной лучевой терапии и внутритканевой лучевой терапии. Для лечения пациентов с локально запущенным заболеванием использовалась гормональная терапия до или после радикальной простатэктомии или лучевой терапии. Гормональная терапия является основной формой лечения мужчин с диссеминированным раком предстательной железы. Орхиэктомия обеспечивает снижение концентрации тестостерона в сыворотке крови, при этом лечение эстрогенами также является эффективным. Полученный из эстрогена диэтилstilбестрол является другой пригодной гормональной терапией, недостатком которой является то, что она обуславливает токсичность со стороны сердечно-сосудистой системы. При введении агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона концентрации тестостерона существенно снижаются. Флутамид и другие нестероидные антиандрогенные средства блокируют связывание тестостерона с его внутриклеточными рецепторами. В следствие этого он блокирует эффект тестостерона, повышая концентрации тестостерона в сыворотке крови, и обеспечивает сохранение у пациентов потенции — что является существенной проблемой после радикальной простатэктомии и лучевой терапии. Цитотоксическая химиотерапия в основном является неэффективной при лечении рака предстательной железы. Ее токсичность делает такую терапию непригодной для пожилых пациентов. Кроме того, рак предстательной железы является относительно резистентным к цитотоксическим средствам. Рецидивирующее или более запущенное заболевание также

лечат с применением антиандрогенной терапии. К сожалению, почти все опухоли становятся гормонорезистентными и быстро прогрессируют при отсутствии какой-либо эффективной терапии. Следовательно, существует потребность в эффективных терапевтических средствах для лечения рака предстательной железы, которые в подавляющем большинстве случаев не токсичны для нормальных тканей пациента и которые являются эффективными в избирательном устранении клеток рака предстательной железы. Согласно определенным вариантам осуществления настоящее раскрытие относится к PSMA-связывающим белкам, которые являются пригодными в лечении рака предстательной железы. Согласно дополнительным вариантам осуществления настоящее раскрытие относится к способу лечения рака предстательной железы с помощью иммунотерапии с применением описанных в настоящем документе PSMA-связывающих белков.

[0042] Рак предстательной железы также трудно диагностировать, поскольку способ скрининга в отношении простатического специфического мембранного антигена ассоциирован со многими ложноположительными результатами. Следовательно, согласно некоторым вариантам осуществления настоящее раскрытие относится к улучшенному способу выявления рака предстательной железы с применением описанных в настоящем документе PSMA-связывающих белков.

PSMA-связывающие белки

[0043] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены связывающие белки, такие как антитела к PSMA или варианты антител, которые связываются с белком PSMA. Белок PSMA, согласно некоторым вариантам осуществления, является мультимером. Мультимер белка PSMA в контексте настоящего документа представляет собой белковый комплекс по меньшей мере из двух белков PSMA или их фрагментов. Мультимеры белка PSMA могут состоять из различных комбинаций полноразмерных белков PSMA (например, SEQ ID NO: 20), рекомбинантного растворимого PSMA (rsPSMA, например, аминокислоты 44-750 SEQ ID NO: 20) и фрагментов вышеперечисленного, которые образуют мультимеры (т. е. в которых сохраняется домен белка, необходимый для образования димеров и/или мультимеров PSMA высшего порядка). Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере один из белков PSMA, образующих мультимер, представляет собой рекомбинантный растворимый полипептид PSMA (rsPSMA). Согласно некоторым вариантам осуществления мультимеры белка PSMA представляют собой димеры, например, таковые, образованные рекомбинантным растворимым белком PSMA. Согласно некоторым вариантам осуществления rsPSMA представляет собой гомодимер. Не вдаваясь в теорию полагают,

что упомянутые в настоящем документе мультимеры белка PSMA принимают нативную конформацию, и предпочтительно характеризуются такой конформацией. Белки PSMA, согласно определенным вариантам осуществления, связаны вместе нековалентно с образованием мультимера белка PSMA. Например, было обнаружено, что белок PSMA связывается нековалентно с образованием димеров в неденатурирующих условиях. Мультимеры белка PSMA могут сохранять, и предпочтительно сохраняют виды активности PSMA. Согласно определенным вариантам осуществления активность белка PSMA является ферментативной активностью, такой как активность, свойственная фолатгидролазе, активность, свойственная NAALAD-азе, активность, свойственная дипептидилпептидазе IV, и активность, свойственная γ -глутамилгидролазе. Способы тестирования PSMA-активности мультимеров известны в данной области (например, рассмотрено O'Keefe et al. в: *Prostate Cancer: Biology, Genetics, and the New Therapeutics*, L. W. K. Chung, W. B. Isaacs and J. W. Simons (eds.) Humana Press, Totowa, N.J., 2000, pp. 307-326).

[0044] Согласно некоторым вариантам осуществления связывающие белки по настоящему раскрытию, которые связывают белок PSMA или мультимер белка PSMA, модулируют ферментативную активность белка PSMA или мультимера белка PSMA. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок ингибирует по меньшей мере один тип ферментативной активности, такой как активность, свойственная NAALAD-азе, активность, свойственная фолатгидролазе, активность, свойственная дипептидилпептидазе IV, активность, свойственная γ -глутамилгидролазе, или их комбинацию. Согласно другим вариантам осуществления PSMA-связывающий белок усиливает по меньшей мере один тип ферментативной активности, такой как активность, свойственная NAALAD-азе, активность, свойственная фолатгидролазе, активность, свойственная дипептидилпептидазе IV, активность, свойственная γ -глутамилгидролазе, или их комбинацию.

[0045] В контексте настоящего документа термин «варианты антител» относится к вариантам и производным описанного в настоящем документе антитела. Согласно определенным вариантам осуществления предусмотрены варианты аминокислотной последовательности описанных в настоящем документе антител к PSMA. Например, согласно определенным вариантам осуществления предусмотрены варианты аминокислотной последовательности описанных в настоящем документе антител к PSMA для улучшения аффинности связывания и/или других биологических свойств антител. Иллюстративный способ получения вариантов аминокислотной последовательности включает без ограничения введение соответствующих модификаций в нуклеотидную

последовательность, кодирующую антитело, или синтез пептидов. Такие модификации включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены в пределах аминокислотных последовательностей антитела.

[0046] Любая комбинация делеции, вставки и замены может быть выполнена для получения конечной конструкции, при условии, что конечная конструкция обладает определенными характеристиками, например, связывания антигена. Согласно определенным вариантам осуществления представлены варианты антител с одной или несколькими аминокислотными заменами. Представляющие интерес сайты для мутагенеза путем замен включают CDR и каркасные области. Примеры таких замен описаны ниже. Аминокислотные замены могут быть введены в представляющее интерес антитело, а продукты подвержены скринингу в отношении требуемой активности, например, сохраненного/улучшенного связывания антигена, сниженной иммуногенности или улучшенной антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC) или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). Как консервативные, так и неконсервативные аминокислотные замены предусмотрены для получения вариантов антител.

[0047] Согласно другому примеру замены с целью создания вариантного антитела к PSMA, замене подлежат один или несколько остатков гипервариабельной области исходного антитела. В общем случае, варианты впоследствии отбирают на основе улучшений в отношении требуемых свойств в сравнении с исходным антителом, например, повышенной аффинности, сниженной аффинности, сниженной иммуногенности, повышенной зависимости связывания от pH. Например, вариантное антитело с созревшей аффинностью может быть получено, к примеру, с применением методики обеспечения созревания аффинности на основе фагового дисплея, как, например, таковых, описанных в настоящем документе и известных в данной области.

[0048] Замены можно выполнять в гипервариабельных областях (HVR) исходного антитела к PSMA с получением вариантов, и варианты затем можно отбирать на основе аффинности связывания, т. е. по созреванию аффинности. Согласно некоторым вариантам осуществления созревания аффинности, разнообразие вводят в гены вариабельных областей, выбранные в отношении созревания, с помощью любого из ряда способов (например, ПЦР с внесением ошибок, перестановка цепей или олигонуклеотид-направленный мутагенез). Затем создают вторичную библиотеку. Затем библиотеку подвергают скринингу для идентификации каких-либо вариантов антител с требуемой аффинностью. Другой способ введения разнообразия включает HVR-направленные подходы, в которых несколько остатков HVR (например, 4-6 остатков за раз)

рандомизированы. Остатки HVR, вовлеченные в связывание антигена, могут быть конкретно идентифицированы, например, с применением аланинсканирующего мутагенеза или моделирования. Замены могут иметь место в одном, двух, трех, четырех или более участках в пределах последовательности исходного антитела.

[0049] Согласно некоторым вариантам осуществления описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок представляет собой однодоменное антитело, такое как вариабельный домен тяжелой цепи (VH), вариабельный домен (VHH) происходящего из антител верблюдовых sdAb, пептид, лиганд или малую молекулу, специфические в отношении PSMA. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий домен описанного в настоящем документе PSMA-связывающего белка представляет собой любой домен, который связывается с PSMA, включая без ограничения домены моноклонального антитела, поликлонального антитела, рекомбинантного антитела, антитела человека, гуманизированного антитела. Согласно определенным вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой однодоменное антитело. Согласно другим вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой пептид. Согласно еще одним вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой малую молекулу.

[0050] В целом следует отметить, что термин «однодоменное антитело» в контексте настоящего документа в его наиболее широком значении не ограничен конкретным биологическим источником или конкретным способом получения. Например, согласно некоторым вариантам осуществления однодоменные антитела по настоящему раскрытию получают: (1) путем выделения VHH-домена из встречающегося в природе антитела, состоящего только из тяжелых цепей; (2) путем обеспечения экспрессии нуклеотидной последовательности, кодирующей встречающийся в природе VHH-домен; (3) путем «гуманизации» встречающегося в природе VHH-домена или путем обеспечения экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей такой гуманизированный VHH-домен; (4) путем «камелизации» встречающегося в природе VH-домена любого вида животного, и, в частности, вида млекопитающего, такого как человек, или путем обеспечения экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей такой камелизированный VH-домен; (5) путем «камелизации» «доменного антитела», или «Dab», или путем обеспечения экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей такой камелизированный VH-домен; (6) путем применения синтетических или полусинтетических методик получения белков, полипептидов или других аминокислотных последовательностей; (7) путем получения нуклеиновой кислоты, кодирующей однодоменное антитело, с применением методик синтеза нуклеиновых кислот, известных в данной области, с последующей экспрессией

полученной таким образом нуклеиновой кислоты; и/или (8) путем применения любой комбинации одного или нескольких из вышеупомянутого.

[0051] Согласно одному варианту осуществления однодоменное антитело соответствует VHH-доменам встречающихся в природе антител, состоящих только из тяжелых цепей, направленных против PSMA. Как описано далее в настоящем документе, такие последовательности VHH в целом можно создавать или получать путем соответствующей иммунизации видов семейства верблюдовых PSMA (т. е. для стимуляции иммунного ответа и/или выработки антител, состоящих только из тяжелых цепей, направленных против PSMA), путем получения подходящего биологического образца от указанного представителя семейства верблюдовых (такого как образец крови, образец сыворотки крови или образец В-клеток), и путем получения последовательностей VHH, направленных против PSMA, начиная с указанного образца, с применением любой подходящей известной в данной области методики.

[0052] Согласно другому варианту осуществления такие встречающиеся в природе VHH-домены, связывающиеся с PSMA, получают из наивных библиотек последовательностей VHH верблюдовых, например, путем скрининга такой библиотеки с применением PSMA или по меньшей мере одной его части, фрагмента, антигенной детерминанты или эпитопа с применением одной или нескольких известных в данной области методик скрининга. Такие библиотеки и методики описаны, например, в WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 и WO 03/035694. В качестве альтернативы, применяют улучшенные синтетические или полусинтетические библиотеки, полученные на основе наивных VHH-библиотек, такие как VHH-библиотеки, полученные на основе наивных VHH библиотек с помощью таких методик, как случайный мутагенез и/или перестановка CDR, как описано, например, в WO 00/43507.

[0053] Согласно еще одному варианту осуществления еще одна методика получения последовательностей VHH, направленных против PSMA, включает соответствующую иммунизацию трансгенного млекопитающего, у которого могут экспрессироваться антитела, состоящие только из тяжелых цепей (т. е. для стимуляции иммунного ответа и/или выработки антител, состоящих только из тяжелых цепей, направленных против PSMA), получение подходящего биологического образца от указанного трансгенного млекопитающего (такого как образец крови, образец сыворотки крови или образец В-клеток), а затем получение последовательностей VHH, направленных против PSMA, начиная с указанного образца, с применением любой подходящей известной в данной области методики. Например, с этой целью можно использовать крыс или мышей,

у которых экспрессируются антитела, состоящие только из тяжелых цепей, а также способы и методики, описанные в WO 02/085945 и в WO 04/049794.

[0054] Согласно некоторым вариантам осуществления однодоменное антитело к PSMA, как описано в настоящем документе, предусматривает однодоменное антитело с аминокислотной последовательностью, которая соответствует аминокислотной последовательности встречающегося в природе VHH-домена, но которая была «гуманизирована», т. е. изменена путем замещения одного или нескольких аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности указанной встречающейся в природе последовательности VHH (и, в частности, в каркасных последовательностях) одним или несколькими из аминокислотных остатков, которые имеют место в соответствующем(-их) положении(-ях) в VH-доме обычного 4-цепочечного антитела человека (например, как указано выше). Это можно осуществлять известным в данной области способом, который будет понятен специалисту в данной области, например, на основе дальнейшего описания, приведенного в настоящем документе. Снова следует отметить, что такие гуманизированные однодоменные антитела к PSMA по настоящему раскрытию получают любым подходящим способом, известным *per se* (т. е. как указано в пунктах (1)-(8) выше), и, таким образом, строго не ограничены полипептидами, которые были получены с применением полипептида, который предусматривает встречающийся в природе VHH-домен в качестве исходного материала. Согласно некоторым дополнительным вариантам осуществления однодоменное антитело к PSMA, как описано в настоящем документе, предусматривает однодоменное антитело с аминокислотной последовательностью, которая соответствует аминокислотной последовательности встречающегося в природе VH-домена, но которая была «камелизирована», т. е. изменена путем замещения одного или нескольких аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности встречающегося в природе VH-домена обычного 4-цепочечного антитела одним или несколькими из аминокислотных остатков, которые имеют место в соответствующем(-их) положении(-ях) в VHH-доме антитела, состоящего только из тяжелых цепей. Такие «камелизирующие» замены предпочтительно вводят по положениям аминокислот, которые образуют и/или присутствуют на границе контакта VH-VL, и/или по так называемым отличительным для Camelidae остаткам (см., например, WO 94/04678 и Davies and Riechmann (1994 и 1996)). Предпочтительно последовательность VH, которую применяют в качестве исходного материала или исходной точки для получения или конструирования камелизированного однодоменного антитела, предпочтительно представляет собой последовательность VH млекопитающего, более предпочтительно последовательность VH человека, такую как

последовательность VH3. Однако следует отметить, что такие камелизированные однодоменные антитела к PSMA по настоящему раскрытию, согласно определенным вариантам осуществления, получают любым подходящим известным в данной области способом (т. е. как указано в пунктах (1)-(8) выше), и, таким образом, они строго не ограничены полипептидами, которые были получены с применением полипептида, который предусматривает встречающийся в природе VH-домен в качестве исходного материала. Например, как описано далее в настоящем документе, как «гуманизацию», так и «камелизацию» осуществляют путем обеспечения нуклеотидной последовательности, которая кодирует встречающийся в природе VHH-домен или VH-домен соответственно, а затем изменения одного или нескольких кодонов в указанной нуклеотидной последовательности таким образом, чтобы новая нуклеотидная последовательность кодировала соответственно «гуманизированное» или «камелизированное» однодоменное антитело. Такая нуклеиновая кислота затем может быть экспрессирована для получения требуемого однодоменного антитела к PSMA по настоящему раскрытию. В качестве альтернативы, согласно другим вариантам осуществления на основе аминокислотной последовательности встречающегося в природе соответственно VHH-домена или VH-домена конструируют аминокислотную последовательность соответственно требуемого гуманизированного или камелизированного однодоменного антитела к PSMA по настоящему раскрытию, а затем синтезируют *de novo* с применением известных методик синтеза пептидов. Согласно некоторым вариантам осуществления на основе аминокислотной последовательности или нуклеотидной последовательности встречающегося в природе соответственно VHH-домена или VH-домена конструируют нуклеотидную последовательность, кодирующую соответственно требуемое гуманизированное или камелизированное однодоменное антитело к PSMA по настоящему раскрытию, а затем синтезируют *de novo* с применением известных методик синтеза нуклеиновых кислот, после чего полученную таким образом нуклеиновую кислоту экспрессируют с применением известных методик экспрессии для получения требуемого однодоменного антитела к PSMA по настоящему раскрытию.

[0055] Другие подходящие способы и методики получения однодоменного антитела к PSMA по настоящему раскрытию и/или кодирующих его нуклеиновых кислот, начиная с встречающихся в природе последовательностей VH или последовательностей VHH, предусматривают, например, объединение одной или нескольких частей одной или нескольких встречающихся в природе последовательностей VH (таких как одна или несколько каркасных (FR) последовательностей и/или последовательностей определяющих комплементарность областей (CDR)), одной или нескольких частей одной или нескольких

встречающихся в природе последовательностей VHH (таких как одна или несколько последовательностей FR или последовательностей CDR) и/или одной или нескольких синтетических или полусинтетических последовательностей, подходящим образом, для получения однодоменного антитела к PSMA по настоящему раскрытию или кодирующей его нуклеотидной последовательности или нуклеиновой кислоты.

[0056] Предусматривается, что согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок является относительно небольшим и весит не более 25 кДа, не более 20 кДа, не более 15 кДа или не более 10 кДа, согласно некоторым вариантам осуществления. В определенных случаях PSMA-связывающий белок весит 5 кДа или меньше, если он представляет собой пептид или малую молекулу.

[0057] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой специфическое в отношении PSMA антитело, содержащее определяющие комплементарность области (CDR), CDR1 варибельной области тяжелой цепи, CDR2 варибельной области тяжелой цепи, CDR3 варибельной области тяжелой цепи, CDR1 варибельной области легкой цепи, CDR2 варибельной области легкой цепи и CDR3 варибельной области легкой цепи. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок предусматривает любой домен, который связывается с PSMA, включая без ограничения домены моноклонального антитела, поликлонального антитела, рекомбинантного антитела, антитела человека, гуманизированного антитела, или антигенсвязывающие фрагменты, такие как однодоменные антитела (sdAb), Fab-, Fab'-, F(ab)2- и Fv-фрагменты, фрагменты, состоящие из одной или нескольких CDR, одноцепочечные антитела (например, одноцепочечные Fv-фрагменты (scFv)), стабилизированные дисульфидными связями (dsFv) Fv-фрагменты, гетероконъюгатные антитела (например, биспецифические антитела), pFv-фрагменты, мономеры или димеры тяжелой цепи, мономеры или димеры легкой цепи и димеры, состоящие из одной тяжелой цепи и одной легкой цепи. В некоторых случаях предпочтительно, чтобы PSMA-связывающий домен происходил из того же вида, у которого в конечном итоге будет применяться описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок. Например, для применения у людей, может быть предпочтительно, чтобы PSMA-связывающий домен PSMA-связывающего белка содержал остатки человека или гуманизированные остатки антигенсвязывающего домена антитела или фрагмента антитела. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой специфический в отношении PSMA связывающий белок, содержащий CDR1 варибельной области тяжелой цепи, CDR2 варибельной области тяжелой цепи и CDR3 варибельной области тяжелой цепи. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок

представляет собой однодоменное антитело к PSMA, содержащее CDR1 варибельной области тяжелой цепи, CDR2 варибельной области тяжелой цепи и CDR3 варибельной области тяжелой цепи.

[0058] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию представляет собой полипептид, предусматривающий аминокислотную последовательность, которая состоит из четырех каркасных областей/последовательностей (f1-f4), прерываемых тремя определяющими комплементарность областями/последовательностями, как представлено формулой f1-r1-f2-r2-f3-r3-f4, причем r1, r2 и r3 являются определяющими комплементарность областями CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, а f1, f2, f3 и f4 являются каркасными остатками. Каркасные области PSMA-связывающего белка по настоящему раскрытию содержат, например, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81 аминокислотный остаток, а определяющие комплементарность области содержат, например, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 аминокислотных остатков. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, содержащую каркасные остатки и CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) CDR1 предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 16, (b) CDR2 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 17, и (c) CDR3 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 18.

[0059] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, содержащую каркасные остатки и CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) CDR1 предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 16, (b) CDR2 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 17, и (c) CDR3 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 18.

[0060] Согласно вариантам осуществления, в которых CDR1 PSMA-связывающего белок предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 16, такие замены включают, например, пролин, гистидин. Согласно вариантам

осуществления, в которых CDR2 PSMA-связывающего белок предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 17, такие замены включают, например, аспарагиновую кислоту, лизин, глутамин, тирозин.

[0061] Согласно вариантам осуществления, в которых CDR3 PSMA-связывающего белок предусматривает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, или вариант с одной, двумя, тремя или четырьмя аминокислотными заменами в SEQ ID NO: 18, такие замены включают, например, серин.

[0062] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает нижеследующую формулу: f1-r1-f2-r2-f3-r3-f4, причем r1, r2 и r3 являются определяющими комплементарность областями CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, а f1, f2, f3 и f4 являются каркасными остатками, и причем r1 предусматривает SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 7, r2 предусматривает SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14 и r3 предусматривает SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию представляет собой однодоменное антитело, предусматривающее следующую формулу: f1-r1-f2-r2-f3-r3-f4, причем r1, r2 и r3 являются определяющими комплементарность областями CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, а f1, f2, f3 и f4 являются каркасными остатками, и причем r1 представляет собой SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 7, r2 представляет собой SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14 и r3 представляет собой SEQ ID NO: 15.

[0063] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY). Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 17, и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 16, (b)

аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (с) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (а) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 16, (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 17, и (с) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY). Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (а) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (с) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (а) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 17, и (с) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY). Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (а) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 16, (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (с) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY).

[0064] Согласно некоторым вариантам осуществления аминокислотные остатки X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ и X₇ независимо выбраны из глутаминовой кислоты, пролина, серина, гистидина, треонина, аспарагиновой кислоты, глицина, лизина, треонина, глутамина и тирозина. Согласно некоторым вариантам осуществления X₁ представляет собой пролин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₂ представляет собой гистидин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления X₄ представляет собой лизин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₅ представляет собой глутамин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₆ представляет собой тирозин. Согласно некоторым вариантам осуществления X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию может содержать последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, причем X₁ представляет собой глутаминовую

кислоту, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой глицин, X₅ представляет собой треонин, X₆ представляет собой серин и X₇ представляет собой серин.

[0065] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₁ представляет собой пролин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₅ представляет собой глутамин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₆ представляет собой тирозин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам

осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₁ представляет собой пролин, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₅ представляет собой глутамин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₆ представляет собой тирозин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок содержит CDR1, CDR2 и CDR3, причем (a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 1 (RFMISX₁YX₂MH), (b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 2 (X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG), и (c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в SEQ ID NO: 3 (DX₇YGY), причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин.

[0066] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию может содержать последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, причем X₁ представляет собой глутаминовую кислоту, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой треонин, X₄ представляет собой глицин, X₅ представляет собой треонин, X₆ представляет собой серин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию может

представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой глутамин, X₅ представляет собой треонин, X₆ представляет собой серин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию может содержать последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, причем X₁ представляет собой глутаминовую кислоту, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой глицин, X₅ представляет собой треонин, X₆ представляет собой тирозин и X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию может содержать последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, причем X₂ представляет собой гистидин и X₇ представляет собой серин. Иллюстративные каркасные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 165-168.

[0067] Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает любую комбинацию нижеследующего: (i) причем X₁ представляет собой пролин; (ii) причем X₂ представляет собой гистидин; (iii) причем X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту; (iv) причем X₄ представляет собой лизин; (v) причем X₅ представляет собой глутамин; (vi) причем X₆ представляет собой тирозин; и (vii) причем X₇ представляет собой серин. Согласно некоторым вариантам осуществления белок вышеописанного варианта осуществления, связывающий простатический специфический мембранный антиген, характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает любую комбинацию нижеследующего: (i) причем X₁ представляет собой пролин; причем X₅ представляет собой глутамин; (ii) причем X₆ представляет собой тирозин; причем X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин; (iii) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин; (iv) причем X₁ представляет собой пролин, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин; (v) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₅ представляет собой глутамин и X₇ представляет собой серин; (vi) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин; (vii) причем X₁ представляет собой пролин, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой

серин; (viii) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₅ представляет собой глутамин и X₇ представляет собой серин; (ix) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₆ представляет собой тирозин и X₇ представляет собой серин; и (x) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин.

[0068] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, причем в одном или нескольких положениях аминокислот осуществлена замена. Согласно некоторым вариантам осуществления в одном или нескольких положениях аминокислот 19, 86, 87 и 106 SEQ ID NO: 4 осуществлена замена. Иллюстративные замены в положениях аминокислот 19, 86, 87 и 106 включают без ограничения T19R, K86R, P87A и Q106L. Согласно некоторым вариантам осуществления в одном или нескольких положениях аминокислот 31, 33, 50, 55, 56, 62 и 97 SEQ ID NO: 4 осуществлена замена. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 31 SEQ ID NO:4 осуществлена замена E31P. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 33 SEQ ID NO:4 осуществлена замена S33H. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 50 SEQ ID NO:4 осуществлена замена T50D. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 55 SEQ ID NO:4 осуществлена замена G55K. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 56 SEQ ID NO:4 осуществлена замена T56Q. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 62 SEQ ID NO:4 осуществлена замена S62Y. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 97 SEQ ID NO:4 осуществлена замена G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 33 SEQ ID NO:4 осуществлена замена S33H. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 31 комбинируют с заменами в положениях 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 31, 50 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены E31P, T50D и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положении 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены S33H и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену

в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены S33H, T50D и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50, 55 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50, 55 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены S33H, T50D, G55K и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 31, 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 31, 33, 50 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены E31P, S33H, T50D и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50, 56 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50, 56 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены S33H, T50D, T56Q и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50, 62 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50, 62 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены S33H, T50D, S62Y и G97S.

[0069] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, причем в одном или нескольких положениях аминокислот осуществлена замена. Согласно некоторым вариантам осуществления в одном или нескольких положениях аминокислот 31, 33, 50, 55, 56, 62 и 97 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена. Согласно некоторым вариантам осуществления в аминокислотном положении 31 SEQ ID NO: 4 осуществлена замена E31P. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 33 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена S33H. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 50 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена T50D. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 55 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена G55K. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 56 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена T56Q. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 62 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена S62Y. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 97 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления в положении аминокислоты 33 SEQ ID NO: 19 осуществлена замена S33H. Согласно некоторым

вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 19 в положении 31 комбинируют с заменами в положениях 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 31, 50 и 97 SEQ ID NO: 19 соответственно осуществлены замены E31P, T50D и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 19 в положении 33 комбинируют с заменами в положении 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33 и 97 SEQ ID NO: 19 соответственно осуществлены замены S33H и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 19 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50 и 97 SEQ ID NO: 19 соответственно осуществлены замены S33H, T50D и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 19 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50, 55 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50, 55 и 97 SEQ ID NO: 19 соответственно осуществлены замены S33H, T50D, G55K и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 19 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 31, 50 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 31, 33, 50 и 97 SEQ ID NO: 19 соответственно осуществлены замены E31P, S33H, T50D и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 19 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50, 56 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50, 56 и 97 SEQ ID NO: 19 соответственно осуществлены замены S33H, T50D, T56Q и G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления замену в SEQ ID NO: 4 в положении 33 комбинируют с заменами в положениях 50, 62 и 97. Согласно некоторым вариантам осуществления в положениях аминокислот 33, 50, 62 и 97 SEQ ID NO: 4 соответственно осуществлены замены S33H, T50D, S62Y и G97S.

[0070] Согласно некоторым вариантам осуществления белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, предусматривает любую комбинацию нижеследующего: (i) замена в положении 31; (ii) замена в положении 50; (iii) замена в положении 55; замена в положении 56; (iv) замена в положении 62; (v) замена в положении 97; (vi) замены в положениях 55 и 97; (vii) замены в положениях 33 и 97; (viii) замены в 33, 50 и 97; (ix) замены в положениях 31, 33, 50 и 97; (x) замены в положениях 33, 50, 55 и 97; (xi) замены в положениях 33, 50, 56 и 97; и (xiii) замены в положениях 33, 50, 62 и 97.

[0071] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок характеризуется перекрестной реактивностью с PSMA человека и яванского макака.

Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок является специфическим в отношении PSMA человека. Согласно различным вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию по меньшей мере на приблизительно 75%, приблизительно 76%, приблизительно 77%, приблизительно 78%, приблизительно 79%, приблизительно 80%, приблизительно 81%, приблизительно 82%, приблизительно 83%, приблизительно 84%, приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичен аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4.

[0072] Согласно различным вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию по меньшей мере на приблизительно 75%, приблизительно 76%, приблизительно 77%, приблизительно 78%, приблизительно 79%, приблизительно 80%, приблизительно 81%, приблизительно 82%, приблизительно 83%, приблизительно 84%, приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичен аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 19.

[0073] Согласно различным вариантам осуществления определяющая комплементарность область PSMA-связывающего белка по настоящему раскрытию по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 81%, приблизительно 82%, приблизительно 83%, приблизительно 84%, приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16.

[0074] Согласно различным вариантам осуществления определяющая комплементарность область PSMA-связывающего белка по настоящему раскрытию по меньшей мере на приблизительно 75%, приблизительно 76%, приблизительно 77%, приблизительно 78%, приблизительно 79%, приблизительно 80%, приблизительно 81%, приблизительно 82%, приблизительно 83%, приблизительно 84%, приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%,

приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17.

[0075] Согласно различным вариантам осуществления определяющая комплементарность область PSMA-связывающего белка по настоящему раскрытию по меньшей мере на приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18.

Гуманизация и созревание аффинности

[0076] При конструировании связывающих белков для терапевтических применений желательным является создание белков, которые, например, модулируют функциональную активность мишени, и/или улучшенных связывающих белков, таких как связывающие белки с более высокой специфичностью и/или аффинностью и/или связывающих белков, которые характеризуются большей биодоступностью, или являются более стабильными, или растворимыми, в частности, в клеточном или тканевом окружении.

[0077] Описанные в настоящем раскрытии PSMA-связывающие белки характеризуются улучшенными показателями аффинности связывания в отношении целевого домена связывания, которым является PSMA. В настоящем раскрытии идентифицированы аминокислотные замены в определяющих комплементарность областях (CDR) описанных в настоящем документе PSMA-связывающих белков, которые обеспечивают более высокую аффинность связывания в отношении одного из или обоих PSMA человека и яванского макака. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой антитело. Согласно определенным вариантам осуществления PSMA-связывающий белок представляет собой гуманизированное антитело. В общем случае гуманизированное антитело содержит один или несколько переменных доменов, в которых CDR или участки CDR происходят из отличного от человеческого антитела, а каркасные области или участки каркасных областей происходят из последовательностей антитела человека. Необязательно, гуманизированное антитело также содержит по меньшей мере участок константной области человека. Согласно некоторым вариантам осуществления выбранные каркасные остатки заменяют соответствующими остатками из отличного от человеческого антитела (например,

антитела, из которого происходят CDR), например, для восстановления или улучшения специфичности, аффинности или зависимости от pH антитела. Каркасные области человека, которые можно применять для гуманизации, включают без ограничения каркасные области, выбранные с применением способа максимального соответствия (например, Sims et al. *J Immunol* 151:2296, 1993); каркасные области, происходящие из консенсусной последовательности антител человека конкретной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи (например, Carter et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:4285, 1992; и Presta et al., *J Immunol*, 151:2623, 1993); зрелые (подвергнутые соматической мутации) каркасные области человека или каркасные области иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, Almagro and Fransson, *Front Biosci* 13:1619-1633, 2008); и каркасные области, полученные в результате скрининга библиотек каркасных областей (например, Vasa et al., *J Biol Chem* 272:10678-10684, 1997; и Rosok et al., *J Biol Chem* 271:22611-22618, 1996)). Таким образом, согласно одному аспекту PSMA-связывающий белок предусматривает гуманизированное антитело или антитело человека или фрагмент антитела. Согласно одному варианту осуществления гуманизированный PSMA-связывающий белок или PSMA-связывающий белок человека содержит одну или несколько (например, все три) из определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (CDR1 LC), определяющей комплементарность области 2 легкой цепи (CDR2 LC) и определяющей комплементарность области 3 легкой цепи (CDR3 LC) гуманизированного PSMA-связывающего домена или PSMA-связывающего домена человека, описанного в настоящем документе, и/или одну или несколько (например, все три) из определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (CDR1 HC), определяющей комплементарность области 2 тяжелой цепи (CDR2 HC) и определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (CDR3 HC) гуманизированного PSMA-связывающего домена или PSMA-связывающего домена человека, описанного в настоящем документе, например, гуманизированного PSMA-связывающего домена или PSMA-связывающего домена человека, содержащего одну или несколько, например, все три, CDR LC и одну или несколько, например, все три, CDR HC. Согласно некоторым вариантам осуществления гуманизированный PSMA-связывающий домен или PSMA-связывающий домен человека предусматривает гуманизированную вариабельную область легкой цепи или вариабельную область легкой цепи человека, специфическую в отношении PSMA, где вариабельная область легкой цепи, специфическая в отношении PSMA, предусматривает CDR легкой цепи человека или отличного от человека вида в каркасной области легкой цепи человека. В определенных случаях каркасная область легкой цепи представляет собой каркасную область легкой λ -(лямбда)-цепи. В других случаях каркасная область легкой

цепи представляет собой каркасную область легкой к-(каппа)-цепи. Согласно некоторым вариантам осуществления гуманизированный PSMA-связывающий домен или PSMA-связывающий домен человека предусматривает гуманизированную переменную область тяжелой цепи или переменную область тяжелой цепи человека, специфическую в отношении PSMA, где переменная область тяжелой цепи, специфическая в отношении PSMA, предусматривает CDR тяжелой цепи человека или отличного от человека вида в каркасной области тяжелой цепи человека. В определенных случаях определяющие комплементарность области тяжелой цепи и/или легкой цепи происходят из известных антител к PSMA, таких как, например, 7E11, EPR6253, 107.1A4, GCP-05, EP3253, BV9, SP29, антитело к PSMA/FOLH1/NAALADазе I человека.

[0078] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающие белки по настоящему раскрытию подвергаются созреванию аффинности с целью повышения их аффинности связывания в отношении целевого домена связывания. Если требуется улучшение аффинности PSMA-связывающих белков по настоящему раскрытию, таких как антитела к PSMA, содержащие один или несколько из вышеупомянутых CDR, такие антитела с улучшенной аффинностью могут быть получены с использованием ряда протоколов обеспечения созревания аффинности, включая без ограничения сохранение CDR, перестановку цепей, применение мутантных штаммов *E. coli*, ДНК-шаффлинг, фаговый дисплей и имитацию генетической рекомбинации. Вышеупомянутые иллюстративные способы обеспечения созревания аффинности обсуждаются Vaughan et al. (Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998). Таким образом, в дополнение к вариантам PSMA-связывающего белка, обсуждаемым в вышеупомянутых разделах, настоящее раскрытие относится к дополнительным вариантам последовательностей, которые обеспечивают улучшение аффинности связывающего белка в отношении его мишени, т.е. PSMA. Согласно определенным вариантам осуществления такие варианты последовательностей предусматривают одну или несколько полуконсервативных или консервативных замен в пределах последовательностей PSMA-связывающего белка, и такие замены предпочтительно в значительной степени не влияют на требуемую активность связывающего белка. Замены могут быть встречающимися в природе или могут быть введены, например, с применением мутагенеза (например, Hutchinson et al., 1978, J. Biol. Chem. 253:6551). Например, аминокислоты глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин зачастую могут быть заменены одна на другую (аминокислоты с алифатическими боковыми цепями). Из таких возможных замен, как правило, глицин и аланин применяют для замены одна на другую, поскольку они имеют относительно короткие боковые цепи, а валин, лейцин и изолейцин применяют для замены одна на другую, поскольку они имеют

более крупные алифатические боковые цепи, которые являются гидрофобными. Другие аминокислоты, которые зачастую могут быть заменены одна на другую, включают без ограничения: фенилаланин, тирозин и триптофан (аминокислоты с ароматическими боковыми цепями); лизин, аргинин и гистидин (аминокислоты с основными боковыми цепями); аспартат и глутамат (аминокислоты с кислыми боковыми цепями); аспарагин и глутамин (аминокислоты с амидсодержащими боковыми цепями); и цистеин и метионин (аминокислоты с серосодержащими боковыми цепями).

[0079] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающие белки выделяют путем скрининга комбинаторных библиотек, например, путем получения библиотек фагового дисплея и скрининга таких библиотек в отношении антител, обладающих требуемыми характеристиками связывания. Кроме того, аффинность связывания PSMA-связывающего белка в отношении его мишени связывания может быть выбрана для управления специфическим периодом полувыведения конкретного белка, связывающего PSMA и альбумин. Таким образом, согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок характеризуется высокой аффинностью связывания в отношении его мишени связывания. Согласно другим вариантам осуществления PSMA-связывающий белок характеризуется средней аффинностью связывания в отношении его мишени связывания. Согласно еще одним вариантам осуществления PSMA-связывающий белок характеризуется низкой или минимальной аффинностью связывания в отношении его мишени связывания. Иллюстративные показатели аффинности связывания включают K_d 10 нМ или менее (высокая), от 10 нМ до 100 нМ (средняя) и более 100 нМ (низкая). Аффинность связывания с PSMA можно определять, например, по способности самого связывающего белка или его PSMA-связывающего домена связываться с PSMA, которым покрыт планшет для анализа; представленным на клеточной поверхности микроорганизма; в растворе и т. д. Активность связывания белка по настоящему раскрытию с PSMA также можно анализировать путем иммобилизации лиганда (например, PSMA) или самого указанного связывающего белка или его PSMA-связывающего домена на грануле, субстрате, поверхности клетки и т. д. Согласно некоторым вариантам осуществления связывание между самим PSMA-связывающим белком или его PSMA-связывающим доменом и лигандом-мишенью (таким как PSMA) определяют, например, с помощью анализа кинетики связывания. Согласно определенным вариантам осуществления анализ кинетики связывания осуществляют с применением системы OCTET®. Согласно таким вариантам осуществления первая стадия предусматривает иммобилизацию лиганда (например, биотинилированного PSMA) на поверхности биосенсора (например, стрептавидинового биосенсора) при оптимальной

плотности загрузки, с последующей промывкой буфером для анализа с целью удаления несвязавшихся лигандов, после чего следует ассоциация анализируемого вещества, т. е. самого PSMA-связывающего белка или его PSMA-связывающего домена с лигандом, после чего следует воздействие на биосенсор буфером, который не содержит анализируемое вещество, что приводит к диссоциации самого PSMA-связывающего белка или его PSMA-связывающего домена от лиганда. Подходящие блокирующие средства, такие как BSA, казеин, Tween-20, ПЭГ, желатин, применяют для блокирования неспецифических сайтов связывания на биосенсоре. Данные по кинетике связывания затем анализируют с применением соответствующего программного обеспечения (например, программного обеспечения Octet от ForteBio) для определения констант скорости ассоциации и диссоциации для взаимодействия путем связывания самого PSMA-связывающего белка или его PSMA-связывающего домена и лиганда.

[0080] Согласно определенным вариантам осуществления раскрытый в настоящем документе PSMA-связывающий белок связывается с PSMA человека с Kd человека (hKd). Согласно определенным вариантам осуществления раскрытый в настоящем документе PSMA-связывающий белок связывается с PSMA яванского макака с Kd яванского макака (cKd). Согласно определенным вариантам осуществления раскрытый в настоящем документе PSMA-связывающий белок связывается с PSMA яванского макака с Kd яванского макака (cKd) и с PSMA человека с Kd человека (hKd). Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 500 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 450 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 400 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 350 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 300 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 250 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 200 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 150 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 100 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,1 нМ до приблизительно 90 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно

0,2 нМ до приблизительно 80 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,3 нМ до приблизительно 70 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,4 нМ до приблизительно 50 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,5 нМ до приблизительно 30 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,6 нМ до приблизительно 10 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,7 нМ до приблизительно 8 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,8 нМ до приблизительно 6 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 0,9 нМ до приблизительно 4 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления hKd и cKd находятся в диапазоне от приблизительно 1 нМ до приблизительно 2 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок связывается с PSMA человека и яванского макака со сравнимой аффинностью связывания (Kd).

[0081] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, и характеризуется hKd от приблизительно 10 нМ до приблизительно 20 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает мутацию с заменой глутаминовой кислоты на пролин в положении аминокислоты 31 SEQ ID NO: 4, и характеризуется hKd от приблизительно 5 нМ до приблизительно 10 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает мутацию с заменой треонина на глутамин в положении аминокислоты 56 SEQ ID NO: 4, и характеризуется hKd от приблизительно 1 нМ до приблизительно 7 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает мутацию с заменой глицина на лизин в положении аминокислоты 55 SEQ ID NO: 4, и характеризуется hKd от приблизительно 0,5 нМ до приблизительно 5 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает мутацию с заменой серина на гистидин в положении аминокислоты 33, треонина на аспарагиновую кислоту в положении аминокислоты 50 и заменой глицина на серин в положении аминокислоты 97 SEQ ID NO: 4, и характеризуется hKd от приблизительно 5 нМ до приблизительно 10 нМ. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию предусматривает мутацию с заменой серина на гистидин в положении аминокислоты 33 и заменой глицина

на серин в положении аминокислоты 97 SEQ ID NO: 4, и характеризуется hKd от приблизительно 0,05 нМ до приблизительно 2 нМ. Таким образом, согласно различным вариантам осуществления PSMA-связывающие белки, предусматривающие одну или несколько замен по сравнению с последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 4, характеризуются показателями аффинности связывания в отношении PSMA человека, которые превышают таковые белка, предусматривающего последовательность SEQ ID NO: 4 без каких-либо замен, с кратностью от 1,5 раза до приблизительно 300 раз. Например, аффинность связывания является более высокой, с кратностью от приблизительно 1,5 раза до приблизительно 3 раз, в случае, если замена(-ы) SEQ ID NO: 4 предусматривает(-ют) E31P; является более высокой, с кратностью от приблизительно 2 раз до приблизительно 15 раз, в случае, если замена(-ы) SEQ ID NO: 4 предусматривает(-ют) T56Q; является более высокой, с кратностью от приблизительно 3 раз до приблизительно 30 раз, в случае, если замена(-ы) SEQ ID NO: 4 предусматривает(-ют) G55K; является более высокой, с кратностью от приблизительно 2 раз до приблизительно 3 раз, в случае, если замена(-ы) SEQ ID NO: 4 предусматривает(-ют) S33H T50D G97S; и является более высокой, с кратностью от приблизительно 5 раз до приблизительно 300 раз, в случае, если замена(-ы) SEQ ID NO: 4 предусматривает(-ют) S33H G97S. Согласно некоторым вариантам осуществления одна или несколько аминокислотных замен SEQ ID NO: 4, как описано выше, обуславливают повышенную аффинность связывания в отношении PSMA как человека, так и яванского макака, например, PSMA-связывающий белок по настоящему раскрытию, предусматривающий аминокислотные замены S33H и G97S в SEQ ID NO: 4, характеризуется повышенной аффинностью в отношении PSMA человека и яванского макака по сравнению с белком, который предусматривает последовательность SEQ ID NO: 4, без каких-либо замен. Еще один пример такого двойного повышения аффинности наблюдается в случае PSMA-связывающего белка, предусматривающего аминокислотные замены S33H, T50D и G97S в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления любой из вышеупомянутых PSMA-связывающих белков (например, однодоменные антитела к PSMA SEQ ID No. 21-32) являются мечеными аффинной пептидной меткой для упрощения очистки. Согласно некоторым вариантам осуществления аффинная пептидная метка представляет собой шесть последовательных гистидиновых остатков, также называемая 6his (SEQ ID NO: 33).

[0082] Аффинность связывания PSMA-связывающих белков, например, однодоменного антитела к PSMA по настоящему раскрытию, также может быть описана в относительном выражении или в сравнении с аффинностью связывания второго связывающего белка, который также специфически связывается с PSMA (например,

второго однодоменного антитела к PSMA, которое является PSMA-специфическим, которое в настоящем документе может быть названо «вторым PSMA-специфическим антителом». Согласно некоторым вариантам осуществления второе PSMA-специфическое антитело представляет собой любой из вариантов PSMA-связывающих белков, описанных в настоящем документе, таких как связывающие белки, определенные SEQ ID No. 21-32. Следовательно, определенные варианты осуществления настоящего раскрытия относятся к однодоменному антителу к PSMA, которое связывается с PSMA человека и/или PSMA яванского макака с более высокой аффинностью, чем связывающий белок SEQ ID NO: 4, или с K_d, ниже чем K_d связывающего белка SEQ ID NO: 4. Кроме того, дополнительные варианты осуществления настоящего раскрытия относятся к однодоменному антителу к PSMA, которое связывается с PSMA человека и/или PSMA яванского макака с более высокой аффинностью, чем связывающий белок SEQ ID NO: 19, или с K_d, ниже чем K_d связывающего белка SEQ ID NO: 19.

CD3-связывающий домен

[0083] Специфичность ответа Т-клеток опосредована распознаванием антигена (представленного в контексте главного комплекса гистосовместимости, МНС) комплексом Т-клеточного рецептора. Как часть комплекса Т-клеточного рецептора, CD3 представляет собой белковый комплекс, который включает цепь CD3 γ (гамма), цепь CD3 δ (дельта) и две цепи CD3 ϵ (эпсилон), которые присутствуют на клеточной поверхности. CD3 связывается с цепями α (альфа) и β (бета) Т-клеточного рецептора (TCR), а также CD3 ζ (зета), в совокупности образуя комплекс Т-клеточного рецептора. Кластеризация CD3 на поверхности Т-клеток, например, посредством иммобилизованных антител к CD3, приводит к активации Т-клетки, аналогично ситуации с вовлечением Т-клеточного рецептора, но не зависит от его клональной специфичности.

[0084] Согласно одному аспекту в настоящем документе описан полиспецифический белок, предусматривающий PSMA-связывающий белок в соответствии с настоящим раскрытием. Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывается с CD3. Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывается с CD3 γ . Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывается с CD3 δ . Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывается с CD3 ϵ .

[0085] Согласно дополнительным вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывается с Т-клеточным рецептором (TCR). Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывает α -цепь TCR. Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывает β -цепь TCR.

[0086] Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок дополнительно предусматривает домен, который специфически связывается с распространенным белком сыворотки крови, таким как сывороточный альбумин человека (HSA). Согласно некоторым вариантам осуществления HSA-связывающий домен предусматривает последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 123-146.

[0087] Согласно некоторым вариантам осуществления полиспецифический белок представляет собой PSMA-нацеленный триспецифический антигенсвязывающий белок, также называемый в настоящем документе PSMA-нацеленной молекулой TriTAC, или связывающейся с PSMA триспецифической молекулой, или триспецифической молекулой.

[0088] Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен полиспецифического белка, предусматривающего описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, характеризуется не только сильной аффинностью связывания CD3 в отношении CD3 человека, но также проявляет превосходную перекрестную реактивность с соответствующими белками CD3 яванского макака. В некоторых случаях CD3-связывающий домен полиспецифических белков характеризуется перекрестной реактивностью с CD3 яванского макака.

[0089] Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен полиспецифического белка, предусматривающего описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, может представлять собой любой домен, который связывается с CD3, включая без ограничения домены моноклонального антитела, поликлонального антитела, рекомбинантного антитела, антитела человека, гуманизированного антитела, или антигенсвязывающие фрагменты CD3-связывающих антител, такие как однодоменные антитела (sdAb), Fab-, Fab'-, F(ab)2- и Fv-фрагменты, фрагменты, состоящие из одной или нескольких CDR, одноцепочечные антитела (например, одноцепочечные Fv-фрагменты (scFv)), стабилизированные дисульфидными связями (dsFv) Fv-фрагменты, гетероконъюгатные антитела (например, биспецифические антитела), pFv-фрагменты, мономеры или димеры тяжелой цепи, мономеры или димеры легкой цепи и димеры,

состоящие из одной тяжелой цепи и одной легкой цепи. В некоторых случаях предпочтительно, чтобы CD3-связывающий домен происходил из того же вида, у которого в конечном итоге будет применяться полиспецифический белок, предусматривающий один описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок. Например, для применения у людей может быть предпочтительно, чтобы CD3-связывающий домен полиспецифического белка, предусматривающего описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, содержал остатки человека или гуманизированные остатки PSMA-связывающего домена антитела или фрагмента антитела.

[0090] Таким образом, согласно одному аспекту CD3-связывающий домен полиспецифического белка, предусматривающего PSMA-связывающий белок, предусматривает гуманизированное антитело или антитело человека, или фрагмент антитела, или антитело мыши, или фрагмент антитела. Согласно одному варианту осуществления гуманизированный CD3-связывающий домен или CD3-связывающий домен человека содержит одну или несколько (например, все три) из определяющих комплементарность областей легкой цепи, определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (CDR1 LC), определяющей комплементарность области 2 легкой цепи (CDR2 LC) и определяющей комплементарность области 3 легкой цепи (CDR3 LC) гуманизированного CD3-связывающего домена или CD3-связывающего домена человека, описанного в настоящем документе, и/или одну или несколько (например, все три) из определяющих комплементарность областей тяжелой цепи, определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (CDR1 HC), определяющей комплементарность области 2 тяжелой цепи (CDR2 HC) и определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (CDR3 HC) гуманизированного CD3-связывающего домена или CD3-связывающего домена человека, описанного в настоящем документе, например, гуманизированного CD3-связывающего домена или CD3-связывающего домена человека, содержащего одну или несколько, например, все три, CDR LC и одну или несколько, например, все три, CDR HC.

[0091] Согласно некоторым вариантам осуществления гуманизированный CD3-связывающий домен или CD3-связывающий домен человека предусматривает гуманизированную переменную область легкой цепи или переменную область легкой цепи человека, специфическую в отношении CD3, где переменная область легкой цепи, специфическая в отношении CD3, предусматривает CDR легкой цепи человека или отличного от человека вида в каркасной области легкой цепи человека. В определенных случаях каркасная область легкой цепи представляет собой каркасную область легкой λ -

(лямбда)-цепи. В других случаях каркасная область легкой цепи представляет собой каркасную область легкой κ -(каппа)-цепи.

[0092] Согласно некоторым вариантам осуществления гуманизированный CD3-связывающий домен или CD3-связывающий домен человека предусматривает гуманизированную переменную область тяжелой цепи или переменную область тяжелой цепи человека, специфическую в отношении CD3, где переменная область тяжелой цепи, специфическая в отношении CD3, предусматривает CDR тяжелой цепи человека или отличного от человека вида в каркасной области тяжелой цепи человека.

[0093] В определенных случаях определяющие комплементарность области тяжелой цепи и/или легкой цепи происходят из известных антител к CD3, таких как, например, муромонаб-CD3 (ОКТ3), отеликсизумаб (TRX4), теплизумаб (MGA031), визилизумаб (Nuvion), SP34, TR-66 или X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111-409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, ОКТ3D, M-T301, SMC2, F101.01, UCNT-1 и WT-31.

[0094] Согласно одному варианту осуществления CD3-связывающий домен представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), содержащий легкую цепь и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, представленной в настоящем документе. В контексте настоящего документа «одноцепочечный переменный фрагмент» или «scFv» относится к фрагменту антитела, содержащему переменную область легкой цепи и по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащего переменную область тяжелой цепи, где переменные области легкой и тяжелой цепей непрерывно соединены посредством короткого гибкого полипептидного линкера, и способному экспрессироваться в виде единой полипептидной цепи, и при этом scFv сохраняет специфичность интактного антитела, из которого он происходит. Согласно одному варианту осуществления CD3-связывающий домен содержит: переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность по меньшей мере с одной, двумя или тремя модификациями (например, заменами), но не более чем с 30, 20 или 10 модификациями (например, заменами), аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи, представленной в настоящем документе, или последовательности, характеризующейся 95-99% идентичностью с аминокислотной последовательностью, представленной в настоящем документе; и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность по меньшей мере с одной, двумя или тремя модификациями (например, заменами), но не более чем с 30, 20 или 10 модификациями (например, заменами), аминокислотной последовательности

вариабельной области тяжелой цепи, представленной в настоящем документе, или последовательности, характеризующейся 95-99% идентичностью с аминокислотной последовательностью, представленной в настоящем документе. Согласно одному варианту осуществления гуманизированный CD3-связывающий домен или CD3-связывающий домен человека представляет собой scFv, и вариабельная область легкой цепи, содержащая аминокислотную последовательность, описанную в настоящем документе, соединена с вариабельной областью тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, описанную в настоящем документе, посредством scFv-линкера. Вариабельная область легкой цепи и вариабельная область тяжелой цепи scFv может находиться, например, в любой из следующих ориентаций: вариабельная область легкой цепи-scFv-линкер-вариабельная область тяжелой цепи или вариабельная область тяжелой цепи-scFv-линкер-вариабельная область легкой цепи.

[0095] В некоторых случаях scFv, которые связываются с CD3, получают в соответствии с известными способами. Например, молекулы scFv могут быть получены путем соединения VH- и VL-областей вместе с применением гибких полипептидных линкеров. Молекулы scFv содержат scFv-линкер (например, линкер Ser-Gly) с оптимизированными длиной и/или аминокислотным составом. Следовательно, согласно некоторым вариантам осуществления длина scFv-линкера является такой, чтобы VH- или VL-домен были способны к межмолекулярной ассоциации с другим вариабельным доменом с образованием сайта связывания CD3. Согласно определенным вариантам осуществления такие scFv-линкеры являются «короткими», т. е. состоят из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 аминокислотных остатков. Таким образом, в определенных случаях scFv-линкеры состоят из приблизительно 12 или менее аминокислотных остатков. В случае 0 аминокислотных остатков, scFv-линкером является пептидная связь. Согласно некоторым вариантам осуществления такие scFv-линкеры состоят из от приблизительно 3 до приблизительно 15, например, 8, 9 или 10 смежных аминокислотных остатков. Что касается аминокислотного состава scFv-линкеров, выбирают пептиды, которые придает гибкость, не затрагивают вариабельные домены, а также обеспечивают межцепочечное сворачивание для соединения двух вариабельных доменов вместе с образованием функционального сайта связывания CD3. Например, scFv-линкеры, содержащие глициновые и сериновые остатки, как правило, обеспечивают устойчивость к протеазам. Согласно некоторым вариантам осуществления линкеры в scFv содержат глициновые и сериновые остатки. Аминокислотная последовательность scFv-линкеров может быть оптимизирована, например, с помощью способов фагового дисплея, с целью улучшения связывания CD3 и выхода продукта в виде scFv. Примеры пептидных scFv-линкеров, подходящих для

соединения переменного домена легкой цепи и переменного домена тяжелой цепи в scFv, включают без ограничения (GS)_n (SEQ ID NO: 157), (GGS)_n (SEQ ID NO: 158), (GGGS)_n (SEQ ID NO: 159), (GGSG)_n (SEQ ID NO: 160), (GGSGG)_n (SEQ ID NO: 161) или (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 162), где n равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. Согласно одному варианту осуществления scFv-линкер может представлять собой (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 163) или (GGGGS)₃ (SEQ ID NO: 164). Изменение длины линкера может обеспечить сохранение или повышение активности, способствуя превосходной эффективности в исследованиях активности.

[0096] Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка характеризуется аффинностью в отношении CD3 на поверхности CD3-экспрессирующих клеток с K_D 1000 нМ или менее, 500 нМ или менее, 200 нМ или менее, 100 нМ или менее, 80 нМ или менее, 50 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 5 нМ или менее, 1 нМ или менее, или 0,5 нМ или менее. Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка характеризуется аффинностью в отношении CD3ε, γ или δ с K_D 1000 нМ или менее, 500 нМ или менее, 200 нМ или менее, 100 нМ или менее, 80 нМ или менее, 50 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 5 нМ или менее, 1 нМ или менее, или 0,5 нМ или менее. Согласно еще одним вариантам осуществления CD3-связывающий домен PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка характеризуется низкой аффинностью в отношении CD3, т. е. приблизительно 100 нМ или более.

[0097] Аффинность связывания с CD3 можно определять, например, по способности самого PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена связываться с CD3, которым покрыт планшет для анализа; представленным на клеточной поверхности микроорганизма; в растворе и т. д. Активность связывания самого PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена по настоящему раскрытию с CD3 можно анализировать путем иммобилизации лиганда (например, CD3) или самого PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена на грануле, субстрате, поверхности клетки и т. д. В соответствующий буфер можно добавлять определенные средства, и партнеры по связыванию можно инкубировать в течение определенного периода времени при заданной температуре. После промывок с целью удаления несвязавшегося материала связанный белок может быть высвобожден с помощью, например, SDS, буферов с высоким pH и т. д. и подвержен анализу, например, с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

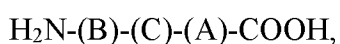
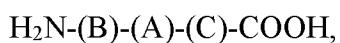
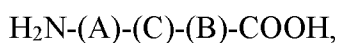
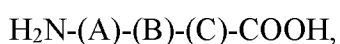
[0098] Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающие домены, описанные в настоящем документе, предусматривают полипептид с последовательностью, описанной в таблице 7 (SEQ ID NO: 34-88), и ее подпоследовательностями. Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает полипептид, характеризующийся по меньшей мере 70%-95% или более гомологией с последовательностью, описанной в таблице 7 (SEQ ID NO: 34-122). Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает полипептид, характеризующийся по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более гомологией с последовательностью, описанной в таблице 7 (SEQ ID NO: 34-122). Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен имеет последовательность, содержащую по меньшей мере участок последовательности, описанной в таблице 7 (SEQ ID NO: 34-122). Согласно некоторым вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает полипептид, содержащий одну или несколько из последовательностей, описанных в таблице 7 (SEQ ID NO: 34-122).

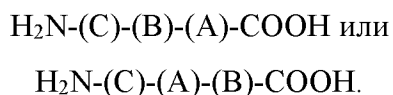
[0099] Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает scFv с CDR1 тяжелой цепи, предусматривающей SEQ ID NO: 49 и 56-67. Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает scFv с CDR2 тяжелой цепи, предусматривающей SEQ ID NO: 50 и 68-77. Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает scFv с CDR3 тяжелой цепи, предусматривающей SEQ ID NO: 51 и 78-87. Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает scFv с CDR1 легкой цепи, предусматривающей SEQ ID NO: 53 и 88-100. Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает scFv с CDR2 легкой цепи, предусматривающей SEQ ID NO: 54 и 101-113. Согласно определенным вариантам осуществления CD3-связывающий домен предусматривает scFv с CDR3 легкой цепи, предусматривающей SEQ ID NO: 55 и 114-120.

[00100] Аффинность связывания с CD3 можно определять, например, по способности полиспецифического белка, предусматривающего сам PSMA-связывающий белок или его CD3-связывающий домен, связываться с CD3, которым покрыт планшет для анализа; представленным на клеточной поверхности микроорганизма; в растворе и т. д. Активность связывания полиспецифического белка, предусматривающего сам PSMA-связывающий белок или его CD3-связывающий домен в соответствии с настоящим раскрытием, с CD3 можно анализировать путем иммобилизации лиганда (например, CD3) или самого указанного полиспецифического белка или его CD3-связывающего домена на грануле, субстрате, поверхности клетки и т. д. Активность связывания полиспецифического

белка, предусматривающего сам PSMA-связывающий белок или его CD3-связывающий домен, в отношении связывания с CD3 можно определять путем иммобилизации лиганда (например, CD3) или самого указанного полиспецифического белка или его PSMA-связывающего домена на грануле, субстрате, поверхности клетки и т. д. Согласно некоторым вариантам осуществления связывание между полиспецифическим белком, предусматривающим PSMA-связывающий белок, и лигандом-мишенью (таким как CD3) определяют, например, с помощью анализа кинетики связывания. Согласно определенным вариантам осуществления анализ кинетики связывания осуществляют с применением системы OCTET®. Согласно таким вариантам осуществления первая стадия предусматривает иммобилизацию лиганда (например, биотинилированного CD3) на поверхности биосенсора (например, стрептавидинового биосенсора) при оптимальной плотности загрузки, с последующей промывкой буфером для анализа с целью удаления несвязавшихся лигандов, после чего следует ассоциация анализируемого вещества, например, полиспецифического белка, предусматривающего PSMA-связывающий белок, с лигандом; после чего следует воздействие на биосенсор буфером, который не содержит анализируемое вещество, что приводит к диссоциации полиспецифического белка, предусматривающего PSMA-связывающий белок, от лиганда. Подходящие блокирующие средства, такие как BSA, казеин, Tween-20, ПЭГ, желатин, применяют для блокирования неспецифических сайтов связывания на биосенсоре в ходе кинетического анализа. Данные по кинетике связывания затем анализируют с применением соответствующего программного обеспечения (например, программного обеспечения Octet от ForteBio) для определения констант скорости ассоциации и диссоциации для взаимодействия путем связывания полиспецифического белка, предусматривающего PSMA-связывающий белок, и лиганда.

[00101] Согласно одному аспекту PSMA-нацеленные триспецифические белки содержат домен (A), который специфически связывается с CD3, домен (B), который специфически связывается с сывороточным альбумином человека (HSA), и домен (C), который специфически связывается с PSMA. Три домена в PSMA-нацеленных триспецифических белках расположены в любом порядке. Таким образом, предусматривается, что порядок доменов PSMA-нацеленных триспецифических белков является следующим:





[00102] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки имеют порядок доменов $\text{H}_2\text{N}-(\text{A})-(\text{B})-(\text{C})-\text{COOH}$. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки имеют порядок доменов $\text{H}_2\text{N}-(\text{A})-(\text{C})-(\text{B})-\text{COOH}$. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки имеют порядок доменов $\text{H}_2\text{N}-(\text{B})-(\text{A})-(\text{C})-\text{COOH}$. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки имеют порядок доменов $\text{H}_2\text{N}-(\text{B})-(\text{C})-(\text{A})-\text{COOH}$. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки имеют порядок доменов $\text{H}_2\text{N}-(\text{C})-(\text{B})-(\text{A})-\text{COOH}$. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки имеют порядок доменов $\text{H}_2\text{N}-(\text{C})-(\text{A})-(\text{B})-\text{COOH}$.

[00103] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки содержат HSA-связывающий домен в виде среднего домена, так что порядок доменов является следующим $\text{H}_2\text{N}-(\text{A})-(\text{B})-(\text{C})-\text{COOH}$ или $\text{H}_2\text{N}-(\text{C})-(\text{B})-(\text{A})-\text{COOH}$. Предусматривается, что согласно таким вариантам осуществления, в которых HSA-связывающий домен является средним доменом, CD3- и PSMA-связывающие домены характеризуются дополнительной гибкостью для связывания с их соответствующими мишенями.

[00104] Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, предусматривают полипептид с последовательностью, описанной в таблице 10 (SEQ ID NO: 147-156), и ее подпоследовательностями. Согласно некоторым вариантам осуществления триспецифический антигенсвязывающий белок предусматривает полипептид, характеризующийся по меньшей мере 70%-95% или более гомологией с последовательностью, описанной в таблице 10 (SEQ ID NO: 147-156). Согласно некоторым вариантам осуществления триспецифический антигенсвязывающий белок предусматривает полипептид, характеризующийся по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более гомологией с последовательностью, описанной в таблице 10 (SEQ ID NO: 147-156). Согласно некоторым вариантам осуществления триспецифический антигенсвязывающий белок имеет последовательность, содержащую по меньшей мере участок последовательности, описанной в таблице 10 (SEQ ID NO: 147-156). Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок предусматривает полипептид, содержащий одну или несколько из последовательностей,

описанных в таблице 10 (SEQ ID NO: 147-156). Согласно еще одним вариантам осуществления PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок содержит одну или несколько CDR, как описано в последовательностях в таблице 10 (SEQ ID NO: 147-156).

[00105] PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, сконструированы с возможностью специфического нацеливания на экспрессирующие PSMA клетки за счет привлечения цитотоксических Т-клеток. Это улучшает эффективность по сравнению с ADCC (антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичностью), при которой задействованы полноразмерные антитела, направленные на одиночный антиген, и при которой отсутствует возможность прямого привлечения цитотоксических Т-клеток. В отличие от этого, путем вовлечения молекул CD3, специфически экспрессируемых на поверхности этих клеток, PSMA-нацеленные триспецифические белки могут перекрестно связывать цитотоксические Т-клетки с экспрессирующими PSMA клетками высокоспецифическим образом, направляя тем самым цитотоксический потенциал Т-клетки в отношении клетки-мишени. PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, обеспечивают вовлечение цитотоксических Т-клеток посредством связывания с экспрессируемыми на поверхности белками CD3, которые образуют часть TCR. Одновременное связывание нескольких PSMA-триспецифических антигенсвязывающих белков с CD3 и с экспрессируемым на поверхности конкретных клеток PSMA обуславливает активацию Т-клеток и опосредует последующий лизис конкретной PSMA-экспрессирующей клетки. Таким образом, предусматривается, что PSMA-нацеленные триспецифические белки демонстрируют интенсивное, специфическое и эффективное уничтожение клетки-мишени. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, стимулируют уничтожение клетки-мишени за счет цитотоксических Т-клеток с целью устранения патогенных клеток (например, экспрессирующих PSMA опухолевых клеток). Согласно некоторым из таких вариантов осуществления клетки уничтожаются избирательно, за счет чего снижается вероятность токсичных побочных эффектов.

[00106] PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, обладают дополнительными терапевтическими преимуществами по сравнению с традиционными моноклональными антителами и другими биспецифическими молекулами меньшего размера. В целом, эффективность рекомбинантных белков в качестве фармацевтических средств в значительной степени зависит от естественных фармакокинетических параметров самого белка. Одно из таких преимуществ заключается в том, что PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе,

характеризуются увеличенным фармакокинетическим периодом полувыведения благодаря наличию домена с увеличенным временем полужизни, таким как специфический в отношении HSA домен. В этом отношении PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, характеризуются увеличенным периодом полувыведения из сыворотки крови, составляющим приблизительно два, три, приблизительно пять, приблизительно семь, приблизительно 10, приблизительно 12 или приблизительно 14 дней, согласно некоторым вариантам осуществления. Это отличает их от других связывающих белков, таких как молекулы BiTE или DART, которые характеризуются относительно значительно более коротким периодом полувыведения. Например, в случае слитой молекулы scFv-scFv в виде биспецифического антитела к CD19×CD3 формата BiTE требуется непрерывная внутривенная инфузионная (i.v.) доставка лекарственного средства из-за ее короткого периода полувыведения. Более продолжительный естественный период полувыведения PSMA-нацеленных триспецифических белков позволяет решить эту проблему, обеспечивая тем самым повышенный терапевтический потенциал, например, фармацевтические составы с низкими дозами, сокращенное периодическое введение и/или новые фармацевтические композиции.

[00107] PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, также имеют оптимальный размер для усиленного проникновения в ткани и распределения в тканях. Более крупные размеры ограничивают или препятствуют проникновению или распределению белка в тканях-мишенях. PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, позволяют избежать этого благодаря маленькому размеру, который обеспечивает усиленное проникновение и распределение в тканях. Следовательно, согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, имеют размер от приблизительно 50 кДа до приблизительно 80 кДа, от приблизительно 50 кДа до приблизительно 75 кДа, от приблизительно 50 кДа до приблизительно 70 кДа или от приблизительно 50 кДа до приблизительно 65 кДа. Таким образом, размер PSMA-нацеленных триспецифических белков является преимущественным в сравнении с IgG-антителами, размер которых составляет приблизительно 150 кДа, и молекул диател BiTE и DART, размер которых составляет приблизительно 55 кДа, но время полужизни которых не увеличено, и, следовательно, они быстро выводятся почкой.

[00108] Согласно еще одним вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, имеют оптимальный размер для усиленного проникновения и распределения в тканях. Согласно таким вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки конструируют так, чтобы они

были как можно меньшего размера, с сохранением при этом специфичности в отношении их мишеней. Следовательно, согласно таким вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, имеют размер от приблизительно 20 кДа до приблизительно 40 кДа, или от приблизительно 25 кДа до приблизительно 35 кДа, до приблизительно 40 кДа, до приблизительно 45 кДа, до приблизительно 50 кДа, до приблизительно 55 кДа, до приблизительно 60 кДа, до приблизительно 65 кДа. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, имеют размер приблизительно 50 кДа, 49 кДа, 48 кДа, 47 кДа, 46 кДа, 45 кДа, 44 кДа, 43 кДа, 42 кДа, 41 кДа, 40 кДа, приблизительно 39 кДа, приблизительно 38 кДа, приблизительно 37 кДа, приблизительно 36 кДа, приблизительно 35 кДа, приблизительно 34 кДа, приблизительно 33 кДа, приблизительно 32 кДа, приблизительно 31 кДа, приблизительно 30 кДа, приблизительно 29 кДа, приблизительно 28 кДа, приблизительно 27 кДа, приблизительно 26 кДа, приблизительно 25 кДа, приблизительно 24 кДа, приблизительно 23 кДа, приблизительно 22 кДа, приблизительно 21 кДа или приблизительно 20 кДа. Иллюстративный подход к обеспечению маленького размера заключается в применении фрагментов однодоменных антител (sdAb) для каждого из доменов. Например, конкретный PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок содержит sdAb к CD3, sdAb к HSA и sdAb к PSMA. Это позволяет уменьшить размер иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка до 40 кДа. Таким образом, согласно некоторым вариантам осуществления все домены PSMA-нацеленных триспецифических белков являются фрагментами однодоменных антител (sdAb). Согласно другим вариантам осуществления PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, содержат малые молекулы (small molecule entity, SME), связывающие HSA и/или PSMA. Связывающие структуры SME являются малыми молекулами со средним размером от приблизительно 500 до 2000 Да, и их присоединяют к PSMA-нацеленным триспецифическим белкам с помощью известных способов, таких как лигирование с использованием сортазы или конъюгация. В таких случаях один из доменов PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка представляет собой последовательность распознавания для сортазы, например, LPETG (SEQ ID NO: 57). Для присоединения связывающей структуры SME к PSMA-триспецифическому антигенсвязывающему белку с последовательностью распознавания для сортазы белок инкубируют с сортазой и связывающей структурой SME, в результате чего сортаза обеспечивает присоединение связывающей структуры SME к последовательности распознавания. Известные связывающие структуры SME включают MIP-1072 и MIP-1095, которые связываются с

простатическим специфическим мембранным антигеном (PSMA). Согласно еще одним вариантам осуществления домен PSMA-нацеленных триспецифических белков, описанных в настоящем документе, который связывается с PSMA, содержит пептид ноттин для связывания PSMA. Ноттины представляют собой стабилизированные дисульфидными связями пептиды со скэффолдом в виде цистеинового узла, и их средние размеры составляют приблизительно 3,5 кДа. Ноттины предусмотрены для связывания с определенными опухоль-ассоциированными молекулами, такими как PSMA. Согласно еще одним вариантам осуществления домен PSMA-нацеленных триспецифических белков, описанных в настоящем документе, который связывается с PSMA, содержит естественный лиганд PSMA.

[00109] Другим признаком PSMA-нацеленных триспецифических белков, описанных в настоящем документе, является то, что они сконструированы в виде одного полипептида с гибкой связью между их доменами. Это позволяет легко получать и производить PSMA-нацеленные триспецифические белки, поскольку они могут кодироваться одной молекулой кДНК, без труда введенной в вектор. Кроме того, поскольку PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, являются мономерной одной полипептидной цепью, не возникает проблем со спариванием цепей или необходимости димеризации. Предусматривается, что PSMA-нацеленные триспецифические белки, описанные в настоящем документе, характеризуются сниженной склонностью к агрегации, в отличие от других известных молекул, таких как биспецифические белки с Fc-гамма иммуноглобулиновыми доменами.

[00110] В PSMA-нацеленных триспецифических белках, описанных в настоящем документе, домены соединены посредством внутренних линкеров L1 и L2, где L1 соединяет первый и второй домены PSMA-нацеленных триспецифических белков, а L2 соединяет второй и третий домены PSMA-нацеленных триспецифических белков. Линкеры L1 и L2 имеют оптимизированные длину и/или аминокислотный состав. Согласно некоторым вариантам осуществления линкеры L1 и L2 имеют одинаковые длину и аминокислотный состав. Согласно другим вариантам осуществления L1 и L2 отличаются. Согласно определенным вариантам осуществления внутренние линкеры L1 и/или L2 являются «короткими», т. е. состоят из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 аминокислотных остатков. Таким образом, в определенных случаях внутренние линкеры состоят из приблизительно 12 или менее аминокислотных остатков. В случае 0 аминокислотных остатков, внутренним линкером является пептидная связь. Согласно определенным вариантам осуществления внутренние линкеры L1 и/или L2 являются «длинными», т. е. состоят из 15, 20 или 25 аминокислотных остатков. Согласно некоторым вариантам осуществления такие

внутренние линкеры состоят из от приблизительно 3 до приблизительно 15, например, 8, 9 или 10 смежных аминокислотных остатков. Что касается аминокислотного состава внутренних линкеров L1 и L2, выбирают пептиды со свойствами, которые придают гибкость PSMA-нацеленным триспецифическим белкам, не затрагивают связывающие домены, а также являются устойчивыми к расщеплению протеазами. Например, как правило, глициновые и сериновые остатки обеспечивают устойчивость к протеазам. Примеры внутренних линкеров, подходящих для соединения доменов в составе PSMA-нацеленных триспецифических белков, включают без ограничения (GS)_n (SEQ ID NO: 157), (GGS)_n (SEQ ID NO: 158), (GGGS)_n (SEQ ID NO: 159), (GGSG)_n (SEQ ID NO: 160), (GGSGG)_n (SEQ ID NO: 161) или (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 162), где n равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. Согласно одному варианту осуществления внутренний линкер L1 и/или L2 представляет собой (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 163) или (GGGGS)₃ (SEQ ID NO: 164).

Модификации PSMA-связывающих белков

[00111] Описанные в настоящем документе PSMA-связывающие белки охватывают производные или аналоги, в которых (i) аминокислота заменена аминокислотным остатком, который не кодируется в соответствии с генетическим кодом, (ii) зрелый полипептид слит с другим соединением, таким как полиэтиленгликоль, или (iii) дополнительные аминокислоты слиты с белком, как, например, лидерная последовательность, или последовательность сигнала секреции, или последовательность для блокирования иммуногенного домена и/или для очистки белка.

[00112] Типичные модификации включают без ограничения ацетилирование, ацилирование, АДФ-рибозилирование, амидирование, ковалентное присоединение флавина, ковалентное присоединение гемового фрагмента, ковалентное присоединение нуклеотида или производного нуклеотида, ковалентное присоединение липида или производного липида, ковалентное присоединение фосфатидилинозитола, сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, образование ковалентных сшивок, образование цистина, образование пироглутамата, формилирование, гамма-карбоксилирование, гликозилирование, образование GPI-якоря, гидроксилирование, иодирование, метилирование, миристилирование, окисление, протеолитический процессинг, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, селеноилирование, сульфатирование, опосредованное транспортной РНК добавление аминокислот к белкам, такое как аргинилирование, и убиквитинирование.

[00113] Модификации выполняют в любой части описанных в настоящем документе PSMA-связывающих белков, включая пептидный остов, боковые цепи аминокислот и амино- или карбокси-концы. Определенные распространенные

модификации пептида, которые являются пригодными для модификации PSMA-связывающих белков, включают гликозилирование, присоединение липидов, сульфатирование, гамма-карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты, гидроксилирование, блокировку amino- или карбоксильной группы в полипептиде, или обоих, посредством ковалентной модификации, и АДФ-рибозилирование.

Полинуклеотиды, кодирующие PSMA-связывающие белки

[00114] Также согласно некоторым вариантам осуществления представлены молекулы полинуклеотидов, кодирующие PSMA-связывающий белок, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления молекулы полинуклеотидов представлены в виде ДНК-конструкции. Согласно другим вариантам осуществления молекулы полинуклеотидов представлены в виде транскрипта матричной РНК.

[00115] Молекулы полинуклеотидов конструируют с помощью известных способов, например, путем объединения генов, кодирующих PSMA-связывающий белок, функционально связанных с подходящим промотором, и необязательно подходящим терминатором транскрипции, и экспрессии в клетках бактерий или другой соответствующей системе экспрессии, такой как, например, клетки CHO.

[00116] Согласно некоторым вариантам осуществления полинуклеотид вставляют в вектор, предпочтительно вектор экспрессии, который является дополнительным вариантом осуществления. Такой рекомбинантный вектор может быть сконструирован в соответствии с известными способами. Представляющие особый интерес векторы включают плазмиды, фагмиды, производные фагов, вирусы (например, ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, вирусы герпеса, лентивирусы и т. д.) и космиды.

[00117] Ряд систем вектор экспрессии/хозяин можно использовать для содержания и экспрессии полинуклеотида, кодирующего полипептид описанного PSMA-связывающего белка. Примерами векторов экспрессии для экспрессии в *E.coli* являются pSKK (Le Gall et al., J Immunol Methods. (2004) 285(1):111-27), pcDNA5 (Invitrogen) для экспрессии в клетках млекопитающих, дрожжевые системы экспрессии PICHIAPINK™ (Invitrogen), бакуловирусовая система экспрессии BACUVANCE™ (GenScript).

[00118] Таким образом, белки, связывающие PSMA и альбумин, как описано в настоящем документе, согласно некоторым вариантам осуществления получают путем введения в клетку-хозяин вектора, кодирующего белок, как описано выше, и культивирования указанной клетки-хозяина в условиях, в которых белковые домены экспрессируются, могут быть выделены и, необязательно, дополнительно очищены.

Получение PSMA-связывающих белков

[00119] Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрыт способ получения PSMA-связывающего белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает культивирование хозяина, трансформированного или трансфицированного вектором, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую PSMA-связывающий белок в условиях, обеспечивающих экспрессию PSMA-связывающего белка, и извлечение и очистку продуцированного белка из культуры.

[00120] Согласно дополнительному варианту осуществления представлен способ, предназначенный для улучшения одного или нескольких свойств, например, аффинности, стабильности, термостабильности, перекрестной реактивности и т. д. PSMA-связывающих белков и/или полиспецифических связывающих белков, предусматривающих описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, по сравнению с эталонным связывающим соединением. Согласно некоторым вариантам осуществления представлено множество библиотек последовательностей с единичными заменами, каждая из которых соответствует отличному домену, или аминокислотному сегменту PSMA-связывающего белка, или эталонному связывающему соединению, так что каждый представитель библиотеки последовательностей с единичными заменами кодирует только одно аминокислотное изменение в его соответствующем домене или аминокислотном сегменте. Как правило, это обеспечивает все возможные замены в крупном белке или сайте связывания белка, подлежащих исследованию с использованием нескольких небольших библиотек. Согласно некоторым вариантам осуществления множество доменов образуют или охватывают непрерывную последовательность аминокислот PSMA-связывающего белка или эталонного связывающего соединения. Нуклеотидные последовательности разных библиотек последовательностей с единичными заменами перекрываются с нуклеотидными последовательностями по меньшей мере одной другой библиотеки последовательностей с единичными заменами. Согласно некоторым вариантам осуществления множество библиотек последовательностей с единичными заменами конструируют так, что каждый представитель перекрывается с каждым представителем каждой библиотеки последовательностей с единичными заменами, кодирующей соседний домен.

[00121] Связывающие соединения, экспрессируемые такими библиотеками последовательностей с единичными заменами, отбирают отдельно с получением набора вариантов в каждой библиотеке, которые обладают свойствами по меньшей мере не хуже таковых эталонного связывающего соединения, и размер полученной библиотеки которых

уменьшен. В целом число нуклеиновых кислот, кодирующих выбранный набор связывающих соединений, меньше числа нуклеиновых кислот, кодирующих представителей исходной библиотеки последовательностей с единичными заменами. Упомянутые свойства включают без ограничения аффинность в отношении соединения-мишени, стабильность по отношению к различным условиям, таким как нагревание, высокий или низкий pH, разрушение ферментами, перекрестную реактивность с другими белками и т. д. Выбранные соединения из каждой библиотеки последовательностей с единичными заменами в настоящем документе взаимозаменяемо называют «предшественниками кандидатных соединений», или «предшественниками кандидатных белков». Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие предшественников кандидатных соединений из отдельных библиотек последовательностей с единичными заменами, подвергают перестановке с помощью ПЦР для получения библиотеки «перетасованных» последовательностей с применением методик генной перестановки на основе ПЦР.

[00122] Иллюстративная последовательность выполнения действий при процессе скрининга описана в настоящем документе. Библиотеки предшественников кандидатных соединений получают из библиотек последовательностей с единичными заменами и отбирают в отношении связывания с белком-мишенью(белками-мишенями), после чего последовательности библиотеки предшественников кандидатных соединений подвергают перестановке для получения библиотеки нуклеиновых кислот, кодирующих кандидатные соединения, которые, в свою очередь, клонируют в стандартный вектор экспрессии, как, например, при применении фагмидной системы экспрессии. Фаг, экспрессирующий кандидатные соединения, затем подвергают одному или нескольким раундам отбора в отношении улучшений требуемых свойств, таких как аффинность связывания с молекулой-мишенью. Молекулы-мишени могут быть адсорбированы или другим способом присоединены к поверхности лунки или другой реакционной емкости, или молекулы-мишени могут быть дериватизированы связывающим фрагментом, таким как биотин, который после инкубации с кандидатными связывающими соединениями может быть захвачен комплементарным фрагментом, таким как стрептавидин, связанным на гранулах, таких как магнитные гранулы, с последующей промывкой. Согласно иллюстративным схемам отбора кандидатные связывающие соединения подвергаются стадии промывки, так что происходит отбор только кандидатных соединений с очень низкими скоростями диссоциации от молекулы-мишени. Иллюстративная продолжительность промывки для таких вариантов осуществления составляет приблизительно 10 минут, приблизительно 15 минут, приблизительно 20 минут, приблизительно 20 минут, приблизительно 30 минут,

приблизительно 35 минут, приблизительно 40 минут, приблизительно 45 минут, приблизительно 50 минут, приблизительно 55 минут, приблизительно 1 час, приблизительно 2 часа, приблизительно 3 часа, приблизительно 4 часа, приблизительно 5 часов, приблизительно 6 часов, приблизительно 7 часов, приблизительно 8 часов; или, согласно другим вариантам осуществления, приблизительно 24 часа; или, согласно другим вариантам осуществления, приблизительно 48 часов; или, согласно другим вариантам осуществления, приблизительно 72 часа. Выделенные клоны после отбора амплифицируют и подвергают дополнительному циклу отбора или анализируют, например, путем секвенирования и путем выполнения сравнительных измерений аффинности связывания, например, с помощью ELISA, метода поверхностного плазмонного резонанса (SPR), интерферометрического анализа биослоя (например, с использованием системы OCTET®, Pall Life Sciences, ForteBio, Менло-Парк, Калифорния) и т. п.

[00123] Согласно некоторым вариантам осуществления вышеупомянутый процесс выполняют для идентификации одного или нескольких PSMA-связывающих белков с улучшенной аффинностью связывания, улучшенной перекрестной реактивностью с выбранным набором мишеней связывания, по сравнению с таковыми эталонного PSMA-связывающего белка. Согласно некоторым вариантам осуществления эталонный связывающий белок представляет собой белок с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам осуществления эталонный связывающий белок представляет собой белок с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19. Согласно определенным вариантам осуществления библиотеки последовательностей с единичными заменами получают путем изменения кодонов в VH-области эталонного PSMA-связывающего белка, включая кодоны в каркасных областях и в CDR. Согласно другому варианту осуществления положения, в которых изменяют кодоны, предусматривают CDR тяжелой цепи эталонного PSMA-связывающего белка или набор таких CDR, как, например, только CDR1, только CDR2, только CDR3 или их пары. Согласно другому варианту осуществления положения, в которых изменяют кодоны, имеют место только в каркасных областях. Согласно некоторым вариантам осуществления библиотека предусматривает изменения по одному кодону только из эталонного PSMA-связывающего белка только в каркасных областях согласно нумерации VH в пределах от 10 до 111. Согласно другому варианту осуществления положения, в которых изменяют кодоны, предусматривают CDR3 тяжелой цепи эталонного PSMA-связывающего белка или набор таких CDR3. Согласно другому варианту осуществления число положений, в которых изменяют кодоны VH-кодирующих областей, находится в диапазоне от 10 до 111, так что вплоть до 80 положений имеют место в

каркасной области. После получения библиотеки последовательностей с единичными заменами, как описано выше, осуществляют следующие стадии: (а) отдельная экспрессия каждого представителя каждой библиотеки последовательностей с единичными заменами в виде предшественника кандидатного белка; (b) отбор представителей каждой библиотеки последовательностей с единичными заменами, кодирующих предшественников кандидатных белков, которые связываются с партнером по связыванию, который может отличаться или может не отличаться от исходной мишени связывания [например, требуемой перекрестно-реагирующей(-их) мишени(-ей)]; (с) перестановка последовательностей представителей выбранных библиотек с помощью ПЦР для получения комбинаторной библиотеки «перетасованных» последовательностей; (d) экспрессия представителей библиотеки «перетасованных» последовательностей в виде кандидатных PSMA-связывающих белков; и (е) отбор представителей из библиотеки «перетасованных» последовательностей один или несколько раз в отношении кандидатных PSMA-связывающих белков, которые связывают исходный партнер по связыванию и, возможно, (f) дополнительный отбор кандидатных белков в отношении связывания с требуемой для перекрестной реакции мишенью(-ями), с обеспечением тем самым нуклеиновой кислоты, кодирующей PSMA-связывающий белок с повышенной перекрестной реактивностью в отношении одного или нескольких веществ по сравнению с эталонным PSMA-связывающим белком без снижения аффинности в отношении исходного лиганда. Согласно дополнительным вариантам осуществления способ может быть выполнен для получения PSMA-связывающего белка со сниженной реактивностью в отношении выбранного перекрестно-реагирующего(-их) веществ(-а), или соединения(-й), или эпитопа(-ов) путем замены стадии (f) следующей стадией: истощение кандидатных связывающих соединений один или несколько раз из пула кандидатных PSMA-связывающих белков, которые связываются с нежелательным перекрестно-реагирующим соединением.

Фармацевтические композиции

[00124] Согласно некоторым вариантам осуществления также представлены фармацевтические композиции, содержащие описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий полипептид PSMA-связывающих белков, или клетку-хозяина, трансформированную таким вектором, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. Термин «фармацевтически приемлемый носитель» включает без ограничения любой носитель, который не воздействует негативным образом на эффективность биологической активности ингредиентов, и который не токсичен для пациента, которому его вводят. Примеры

подходящих фармацевтических носителей хорошо известны в данной области и включают забуференные фосфатом солевые растворы, воду, эмульсии, такие как эмульсии масло/вода, различные типы смачивающих веществ, стерильные растворы и т. д. Такие носители могут быть составлены с помощью традиционных способов и могут быть введены субъекту в подходящей дозе. Предпочтительно композиции являются стерильными. Такие композиции также могут содержать вспомогательные вещества, такие как консерванты, эмульгирующие вещества и диспергирующие вещества. Предотвращение действия микроорганизмов может быть обеспечено включением различных антибактериальных и противогрибковых средств.

[00125] Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе фармацевтических композиций PSMA-связывающий белок инкапсулирован в наночастицы. Согласно некоторым вариантам осуществления наночастицы представляют собой фуллерены, жидкие кристаллы, липосому, квантовые точки, суперпарамагнитные наночастицы, дендримеры или наностержни. Согласно другим вариантам осуществления фармацевтических композиций PSMA-связывающий белок присоединен к липосомам. В некоторых случаях PSMA-связывающий белок конъюгирован с поверхностью липосом. В некоторых случаях PSMA-связывающий белок инкапсулирован в оболочку липосомы. В некоторых случаях липосома представляет собой катионную липосому.

[00126] Описанные в настоящем документе PSMA-связывающие белки предусмотрены для применения в качестве лекарственного препарата. Введение выполняют различными путями, например, путем внутривенного, внутрибрюшинного, подкожного, внутримышечного, местного или внутрикожного введения. Согласно некоторым вариантам осуществления путь введения зависит от типа терапии и типа соединения, содержащегося в фармацевтической композиции. Схема применения будет определена лечащим врачом и с учетом других клинических факторов. Дозировки для любого пациента зависят от многих факторов, включая размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, пол, конкретное соединение, подлежащее введению, продолжительность и путь введения, тип терапии, общее состояние здоровья и другие вводимые одновременно лекарственные средства. «Эффективная доза» относится к количествам активного ингредиента, которые являются достаточными для воздействия на течение и тяжесть заболевания, что приводит к уменьшению интенсивности или ремиссии такой патологии, и они могут быть определены с применением известных способов.

Способы лечения

[00127] Согласно некоторым вариантам осуществления также в настоящем документе представлены способы и варианты применения стимуляции иммунной системы

у нуждающегося в этом индивидуума, предусматривающие введение PSMA-связывающего белка или полиспецифического связывающего белка, предусматривающего описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок. В некоторых случаях введение описанного в настоящем документе PSMA-связывающего белка обеспечивает индукцию и/или поддержание цитотоксичности в отношении клетки, экспрессирующей антиген-мишень. В некоторых случаях клетка, экспрессирующая антиген-мишень, представляет собой раковую или опухолевую клетку, инфицированную вирусом клетку, инфицированную бактерией клетку, аутореактивную Т- или В-клетку, поврежденные эритроциты, клетку артериальных бляшек или клетку фиброзной ткани.

[00128] Также в настоящем документе представлены способы и варианты применения для лечения заболевания, нарушения или состояния, ассоциированных с антигеном-мишенью, предусматривающие введение нуждающемуся в этом индивидууму PSMA-связывающего белка или полиспецифического связывающего белка, предусматривающего описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок. Заболевания, нарушения или состояния, ассоциированные с антигеном-мишенью, включают без ограничения вирусную инфекцию, бактериальную инфекцию, аутоиммунное заболевание, отторжение трансплантата, атеросклероз или фиброз. Согласно другим вариантам осуществления заболевание, нарушение или состояние, ассоциированные с антигеном-мишенью, представляют собой пролиферативное заболевание, опухолевое заболевание, воспалительное заболевание, иммунологическое нарушение, аутоиммунное заболевание, инфекционное заболевание, вирусное заболевание, аллергическую реакцию, реакцию на паразитарную инвазию, реакцию «трансплантат против хозяина» или реакцию «хозяин против трансплантата». Согласно одному варианту осуществления заболевание, нарушение или состояние, ассоциированные с антигеном-мишенью, представляют собой рак. В одном случае рак представляет собой рак кроветворной ткани. В другом случае рак представляет собой рак предстательной железы.

[00129] Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы представляет собой рак предстательной железы на поздней стадии. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является резистентным к лекарственным средствам. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является резистентным к антиандрогенным препаратам. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является метастатическим. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является метастатическим и резистентным к лекарственным средствам (например, резистентным к антиандрогенным препаратам). Согласно некоторым вариантам

осуществления рак предстательной железы является кастрационно-резистентным. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является метастатическим и кастрационно-резистентным. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является резистентным к энзалутамиду. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является резистентным к энзалутамиду и абиратерону. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является резистентным к энзалутамиду, абиратерону и бикалутамиду. Согласно некоторым вариантам осуществления рак предстательной железы является резистентным к доцетакселу. Согласно некоторым из этих вариантов осуществления рак предстательной железы является резистентным к энзалутамиду, абиратерону, бикалутамиду и доцетакселу.

[00130] Согласно некоторым вариантам осуществления введение описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка обеспечивает ингибирование роста клеток рака предстательной железы; обеспечивает ингибирование миграции клеток рака предстательной железы; обеспечивает ингибирование инвазии клеток рака предстательной железы; обеспечивает уменьшение интенсивности симптомов рака предстательной железы; обеспечивает уменьшение размера раковой опухоли предстательной железы; обеспечивает уменьшение числа раковых опухолей предстательной железы; обеспечивает уменьшение числа клеток рака предстательной железы; индуцирует некроз, пироптоз, онкоз, апоптоз, аутофагию или другой механизм гибели клеток рака предстательной железы; или обеспечивает усиление терапевтических эффектов соединения, выбранного из группы, состоящей из энзалутамида, абиратерона, доцетаксела, бикалутамида и любых их комбинаций.

[00131] Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает ингибирование роста клеток рака предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает ингибирование миграции клеток рака предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает ингибирование инвазии клеток рака предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка.

Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает уменьшение интенсивности симптомов рака предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает уменьшение размера раковой опухоли предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает уменьшение числа раковых опухолей предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает уменьшение числа клеток рака предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе однодоменного антитела к PSMA или описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает индуцирование клетка рака предстательной железы некроз, пироптоз, онкоз, апоптоз, аутофагию или другой механизм гибели клеток рака предстательной железы за счет введения описанного в настоящем документе PSMA-нацеленного триспецифического белка.

[00132] В контексте настоящего документа согласно некоторым вариантам осуществления «лечение», или «осуществление лечения», или «подвергнутый лечению» относится к терапевтическому лечению, при котором целью является замедление (облегчение) течения нежелательного физиологического состояния, нарушения или заболевания, или получение благоприятных или требуемых клинических результатов. Для описанных в настоящем документе целей, благоприятные или требуемые клинические результаты включают без ограничения ослабление симптомов; уменьшение степени выраженности состояния, нарушения или заболевания; стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) течения состояния, нарушения или заболевания; задержку проявления или замедление прогрессирования состояния, нарушения или заболевания; облегчение течения состояния, нарушения или заболевания; и ремиссию (частичную или полную), не зависимо от того, является она выявляемой или невыявляемой, или повышение положительных показателей или улучшение течения состояния, нарушения или заболевания. Лечение включает стимуляцию клинически значимого ответа без чрезмерных уровней побочных эффектов. Лечение также включает продление выживания по сравнению с ожидаемым выживанием в случае отсутствия получения лечения. Согласно другим вариантам

осуществления «лечение», или «осуществление лечения», или «подвергнутый лечению» относится к профилактическим мерам, при которых целью является задержка проявления или снижение тяжести нежелательного физиологического состояния, нарушения или заболевания, например, у лица с предрасположенностью к заболеванию (например, индивидуума, который является носителем генетического маркера заболевания, такого как рак молочной железы).

[00133] Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе способов PSMA-связывающие белки или полиспецифический связывающий белок, предусматривающий описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, вводят в комбинации со средством для лечения конкретного заболевания, нарушения или состояния. Средства включают без ограничения виды терапии с вовлечением антител, малых молекул (например, химиотерапевтических препаратов), гормонов (стероидных, пептидных и т. д.), виды лучевой терапии (γ -излучение, рентгеновское излучение и/или направленная доставка радиоизотопов, микроволновое излучение, УФ-излучение и т. д.), виды генной терапии (например, антисмысловая, ретровирусная терапия и т. д.), а также виды иммунотерапии. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающий белок или полиспецифический связывающий белок, предусматривающий описанный в настоящем документе PSMA-связывающий белок, вводят в комбинации с противодиарейными средствами, противорвотными средствами, анальгетиками, опиоидами и/или нестероидными противовоспалительными средствами. Согласно некоторым вариантам осуществления PSMA-связывающие белки или полиспецифический связывающий белок, предусматривающий PSMA-связывающий белок, как описано в настоящем документе, вводят до, во время или после хирургического вмешательства. В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения представлены наборы для выявления рака предстательной железы для диагностики, прогнозирования или мониторинга. Наборы включают вышеупомянутые PSMA-связывающие белки (например, меченные однодоменные антитела к PSMA или их антигенсвязывающие фрагменты) и один или несколько соединений для выявления метки. Согласно некоторым вариантам осуществления метка выбрана из группы, состоящей из флуоресцентной метки, ферментной метки, радиоактивной метки, активной в отношении ядерно-магнитного резонанса метки, люминесцентной метки и хромофора.

[00134] Еще один вариант осуществления относится к одному или нескольким из вышеописанных связывающих белков, таким как однодоменные антитела к PSMA или их антигенсвязывающие фрагменты, упакованные в лиофилизированной форме или упакованные в водной среде. Согласно другому аспекту настоящего раскрытия

представлены способы выявления наличия PSMA или экспрессирующей PSMA клетки в образце. Такие способы включают приведение образца в контакт с любым из вышеупомянутых PSMA-связывающих белков (таких как однодоменные антитела к PSMA или их антигенсвязывающие фрагменты), которые специфически связываются с внеклеточным доменом PSMA, в течение времени, достаточного для обеспечения образования комплекса между антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и PSMA, и выявление комплекса PSMA-антитело или комплекса PSMA-антигенсвязывающий фрагмент. Согласно некоторым вариантам осуществления наличие комплекса в образце указывает на наличие в образце PSMA или экспрессирующей PSMA клетки. Согласно другому аспекту настоящее раскрытие относится к другим способам диагностики PSMA-опосредованного заболевания у субъекта. Такие способы включают введение субъекту с ранее диагностированным PSMA-опосредованным заболеванием или с подозрением на его наличие некоторого количества любого из вышеупомянутых PSMA-связывающих белков (таких как однодоменные антитела к PSMA или их антигенсвязывающие фрагменты), которые специфически связываются с внеклеточным доменом простатического специфического мембранного антигена. Способ также включает обеспечение образования комплекса между антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и PSMA, и выявление образования комплекса PSMA-антитело или комплекса PSMA-антигенсвязывающий фрагмент антитела с эпитопом-мишенью. Наличие комплекса у субъекта с ранее диагностированным раком предстательной железы или с подозрением на его наличие указывает на наличие PSMA-опосредованного заболевания.

[00135] Согласно определенным вариантам осуществления способов PSMA-опосредованное заболевание представляет собой рак предстательной железы. Согласно другим вариантам осуществления PSMA-опосредованное заболевание представляет собой рак, отличный от рака предстательной железы, как, например, таковой, выбранный из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, включая переходно-клеточную карциному; рак поджелудочной железы, включая карциному протока поджелудочной железы; рак легкого, включая немелкоклеточную карциному легкого; рак почки, включая распространенную почечно-клеточную карциному; саркому, включая саркому мягких тканей; рак молочной железы, включая карциному молочной железы; опухоль головного мозга, включая мультиформную глиобластому; нейроэндокринную карциному; рак толстой кишки, включая карциному толстой кишки; рак яичка, включая эмбриональную карциному яичка; и меланому, включая злокачественную меланому.

[00136] Согласно некоторым вариантам осуществления вышеупомянутых способов PSMA-связывающие белки (такие как однодоменные антитела к PSMA или их

антигенсвязывающие фрагменты) метят. Согласно другим вариантам осуществления вышеупомянутых способов вторичное антитело вводят для выявления первичного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Согласно дополнительному аспекту настоящего раскрытия представлены способы оценки прогноза у субъекта с PSMA-опосредованным заболеванием. Такие способы включают введение субъекту с ранее диагностированным PSMA-опосредованным заболеванием или с подозрением на его наличие эффективного количества любого из вышеупомянутых PSMA-связывающих белков (таких как однодоменные антитела к PSMA или их антигенсвязывающие фрагменты), обеспечивающего образование комплекса между антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и PSMA, и выявление образования комплекса с эпитопом-мишенью. Количество комплекса у субъекта с ранее диагностированным PSMA-опосредованным заболеванием или с подозрением на его наличие позволяет делать прогноз.

[00137] Согласно другому аспекту настоящего раскрытия представлены способы оценки эффективности лечения субъекта с PSMA-опосредованным заболеванием. Такие способы включают введение субъекту с ранее диагностированным PSMA-опосредованным заболеванием или с подозрением на его наличие эффективного количества любого из вышеупомянутых PSMA-связывающих белков, таких как однодоменные антитела к PSMA или их антигенсвязывающие фрагменты, обеспечивающего образование комплекса между антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и PSMA, и выявление образования комплекса с эпитопом-мишенью. Количество комплекса у субъекта с ранее диагностированным PSMA-опосредованным заболеванием или с подозрением на его наличие указывает на эффективность лечения. Согласно определенным вариантам осуществления PSMA-опосредованное заболевание представляет собой рак предстательной железы. Согласно другим вариантам осуществления PSMA-опосредованное заболевание представляет собой рак, отличный от рака предстательной железы. Согласно таким вариантам осуществления рак, отличный от рака предстательной железы, предпочтительно выбран из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, включая переходо-клеточную карциному; рак поджелудочной железы, включая карциному протока поджелудочной железы; рак легкого, включая немелкоклеточную карциному легкого; рак почки, включая распространенную почечно-клеточную карциному; саркому, включая саркому мягких тканей; рак молочной железы, включая карциному молочной железы; опухоль головного мозга, включая мультиформную глиобластому; нейроэндокринную карциному; рак толстой кишки, включая карциному толстой кишки; рак яичка, включая эмбриональную карциному яичка; и меланому, включая злокачественную меланому. Согласно еще одним вариантам осуществления антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент метят. Согласно еще одним вариантам осуществления вторичное антитело вводят для выявления первичного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[00138] В соответствии с еще одним аспектом настоящего раскрытия представлены способы ингибирования роста экспрессирующей PSMA клетки. Такие способы включают приведение экспрессирующей PSMA клетки в контакт с количеством по меньшей мере одного из вышеупомянутых антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфически связываются с внеклеточным доменом PSMA, эффективным для ингибирования роста экспрессирующей PSMA клетки.

Примеры

[00139] Приведенные ниже примеры дополнительно иллюстрируют описанные варианты осуществления без ограничения объема настоящего изобретения.

Пример 1. Получение вариантов однодоменных антител к PSMA с эквивалентными или улучшенными свойствами связывания по сравнению с исходным однодоменным антителом к PSMA.

Определение характеристик исходного фага, экспрессирующего антитело к PSMA

[00140] Определяли специфическое связывание исходного фага, экспрессирующего антитело к PSMA, с антигеном PSMA (**таблица 1**)

Фаговые библиотеки sdAb к PSMA с единичными заменами, отобранные в отношении PSMA яванского макака

[00141] Библиотеку последовательностей с единичными заменами получали для каждого из трех CDR-доменов. Библиотеки последовательностей с единичными заменами связывали с PSMA яванского макака, а затем промывали в буфере в течение 30 минут. Фаги, связанные к 0 и 30 минуте, выделяли и подсчитывали. Фаги, отобранные с применением 30-минутной промывки в буфере, применяли для создания двух независимых комбинаторных фаговых библиотек.

Комбинаторные библиотеки антител к PSMA

[00142] PSMA яванского макака применяли в качестве мишени для отбора в течение трех раундов отбора. Лунки промывали в течение 2-4 часов после связывания фагов комбинаторной библиотеки из двух независимых библиотек в течение трех раундов отбора. Вставки, амплифицированные с помощью ПЦР после третьего раунда отбора, субклонировали в вектор экспрессии р34. Выбирали 96 клонов, ДНК очищали, секвенировали и трансфицировали ею клетки Expi293.

Фаговые библиотеки sdAb к PSMA с единичными заменами, отобранные в отношении huPSMA

[00143] Библиотеку последовательностей с единичными заменами получали для каждого из трех CDR-доменов. Библиотеки последовательностей с единичными заменами связывали с PSMA человека, а затем промывали в буфере, содержащем 30 мкг/мл hPSMA-Fc в течение 24 часов. Фаги, связанные к 0 и 24 часам, выделяли и подсчитывали. Фаги, отобранные с применением 24-часовой конкурентной промывки, применяли для создания комбинаторной фаговой библиотеки.

Комбинаторные библиотеки антител к PSMA

[00144] PSMA человека применяли в качестве мишени для отбора в течение трех раундов отбора. Лунки промывали в буфере, содержащем от 30 мкг/мл до 850 мкг/мл PSMA-Fc человека, в течение 24–96 часов после связывания фагов комбинаторной библиотеки в течение трех раундов отбора. Вставки, амплифицированные с помощью ПЦР после третьего раунда отбора, субклонировали в вектор экспрессии p34. Выбирали 96 клонов, ДНК очищали, секвенировали и трансфицировали ею клетки Expi293.

Измерение аффинности связывания

[00145] Супернатанты применяли для установления K_d , k_{on} и k_{off} (или k_{dis}) в отношении PSMA человека и яванского макака с применением системы OCTET®. Несколько клонов были отобраны для дополнительного определения характеристик (таблица 1) на основе их показателей аффинности связывания, и констант скорости ассоциации и диссоциации для взаимодействия с PSMA человека, по сравнению с исходным sdAb, а также устойчивых профилей выработки, агрегации и стабильности. Исходное sdAb представлено как wt sdAb.6his к PSMA в таблице 1.

Таблица 1. Аффинность связывания (K_d) нескольких PSMA-связывающих белков с PSMA человека.

	K_d (hFc.flag.hPSMA)	k_{on} (1/мс)	k_{dis} (1/с)
wt sdAb.6his к PSMA	15,0 нМ	8,77E+05	1,32E-02
E31P sdAb.6his к PSMA	9,5 нМ	3,83E+05	3,66E-03
T56Q sdAb.6his к PSMA	5,6 нМ	8,22E+05	4,61E-03
G55K sdAb.6his к PSMA	4,5 нМ	5,56E+05	2,48E-03
S33H T50D G97SsdAb.6his к PSMA	6,7 нМ	8,00E+05	5,38E-03
S33H G97SsdAb.6his к PSMA	0,21 нМ	9,36E+05	1,97E-05

Пример 2. Способы оценки связывания и цитотоксической активности иллюстративных PSMA-нацеленных триспецифических антигенсвязывающих молекул.

[00146] Получение белка

[00147] Последовательности триспецифических молекул, которым предшествует лидерная последовательность, и после которых следует бх гистидиновая метка (SEQ ID NO: 33), клонировали в вектор экспрессии pcDNA 3.4 (Invitrogen) для экспрессии в клетках млекопитающих. Клетки Expi293F (Life Technologies A14527) поддерживали в суспензии в колбах Optimum Growth (Thomson) в количестве от 0,2 до 8×10^6 клеток/мл в среде Expi293. Клетки Expi293 трансфицировали очищенной плазмидной ДНК в соответствии с протоколами набора для системы экспрессии Expi293 (Life Technologies, A14635), и поддерживали в течение 4-6 дней после трансфекции. Кондиционированную среду частично очищали с помощью аффинной и высаливающей хроматографии. Триспецифические белки затем очищали с помощью ионообменного метода или, в качестве альтернативы, концентрировали с использованием фильтров для ультрацентрифугирования Amicon (EMD Millipore), вносили в среду для эксклюзионной хроматографии Superdex 200 (GE Healthcare) и разделяли в нейтральном буфере, содержащем вспомогательные вещества. Фракции объединяли, и конечную чистоту оценивали с помощью SDS-PAGE и аналитической SEC.

[00148] Измерения аффинности

[00149] Показатели аффинности для всех молекул связывающих доменов измеряли с помощью интерферометрии биослоя с применением прибора Octet.

[00150] Показатели аффинности в отношении PSMA измеряли путем загрузки белка PSMA-Fc человека (100 нМ) на биосенсоры с Fc к IgG человека в течение 120 секунд, с последующим 60-секундным измерением исходного уровня, после чего события связывания измеряли путем инкубирования кончика сенсора в сериях разведений триспецифических молекул в течение 180 секунд, с последующей диссоциацией в течение 50 секунд. Показатели аффинности в отношении EGFR и CD3 измеряли путем загрузки белка EGFR-Fc человека или белка CD3-Flag-Fc человека соответственно (100 нМ) на биосенсоры с Fc к IgG человека в течение 120 секунд, с последующим 60-секундным измерением исходного уровня, после чего события связывания измеряли путем инкубирования кончика сенсора в сериях разведений триспецифических молекул в течение 180 секунд, с последующей диссоциацией в течение 300 секунд. Показатели аффинности в отношении сывороточного альбумина человека (HSA) измеряли путем загрузки биотинилированного альбумина на стрептавидиновые биосенсоры, затем измеряли те же параметры кинетики, что и в случае измерений аффинности в отношении CD3. Все стадии осуществляли при 30°C в 0,25% казеине в забуференном фосфатом солевом растворе.

[00151] Анализ цитотоксичности

[00152] Анализ зависимой от Т-клеток человека клеточной цитотоксичности (TDCC) применяли для измерения способности привлекающих Т-клетки активаторов, включая триспецифические молекулы, направлять Т-клетки на уничтожение опухолевых клеток (Nazarian et al. 2015. J Biomol Screen. 20:519-27). В этом анализе Т-клетки и клетки-мишени раковой клеточной линии смешивали вместе в соотношении 10:1 в 384-луночном планшете, и добавляли различные количества привлекающего Т-клетки активатора. Спустя 48 часов Т-клетки вымывали, оставляя прикрепленные к планшету клетки-мишени, которые не были уничтожены Т-клетками. Для количественного определения оставшихся живых клеток применяли люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo® (Promega). В некоторых случаях клетки-мишени были сконструированы для экспрессии люциферазы. В таких случаях жизнеспособность клеток-мишеней оценивали путем осуществления люминесцентного люциферазного анализа с использованием реагента STEADYGLO® (Promega), в котором жизнеспособность прямо пропорциональна уровню активности люциферазы.

[00153] Анализы стабильности

[00154] Стабильность триспецифических связывающих белков оценивали при низких концентрациях в присутствии сыворотки крови отличного от человека примата. TriTAC разводили до 33 мкг/мл в сыворотке крови яванского макака (BioReclamationIVT), и либо инкубировали в течение 2 д при 37°C, либо подвергали пяти циклам заморозания-оттаивания. После обработки образцы оценивали в анализах цитотоксичности (TDCC), и их остаточную активность сравнивали с необработанными исходными растворами.

[00155] Анализы ксенотрансплантатов

[00156] Эффективность триспецифических связывающих белков *in vivo* оценивали в экспериментах с ксенотрансплантатами (Crown Bioscience, Тайцан). Мышам NOD/SCID, дефицитным по общей гамма-цепи (NCG, Центр исследований на модельных животных Нанкинского университета, (Model Animal Research Center of Nanjing University)) в день 0 инокулировали смесь 5е6 клеток рака предстательной железы человека 22Rv1 и 5е6 покоящихся Т-клеток человека, которые были выделены из организма здорового донора-человека. Мышей рандомизировали в три группы и обрабатывали средой-носителем, 0,5 мг/кг PSMA TriTAC C324 или 0,5 мг/кг PSMA BiTE. Препараты вводили ежедневно в течение 10 дней посредством *i.v.* болюсной инъекции. Животных ежедневно проверяли в отношении заболеваемости и смертности. Показатели объема опухоли определяли два раза в неделю с помощью штангенциркуля. Исследование завершали спустя 30 дней.

[00157] Анализы PK

[00158] Целью этого исследования была оценка фармакокинетических параметров однократной дозы триспецифических связывающих белков после внутривенной инъекции. Ранее не участвующим в экспериментах 2 яванским макакам на группу (1 самец и 1 самка) давали соединение посредством медленной IV болюсной инъекции, вводимой в течение примерно 1 минуты. После введения дозы один раз в сутки проводили наблюдения у клетки и каждую неделю регистрировали показатели веса тела. Собирали образцы крови, и обрабатывали их с получением сыворотки крови для фармакокинетического анализа в течение 21 дня после введения дозы.

[00159] Концентрации тестируемых препаратов определяли в сыворотке крови обезьяны путем электролюминесцентного считывания (Meso Scale Diagnostics, Роквилл). Для захвата анализируемого вещества применяли 96-луночные планшеты с иммобилизированным рекомбинантным CD3. Выявление осуществляли с использованием меченного SULFO-TAG рекомбинантного PSMA на MSD-ридере в соответствии с инструкциями производителя.

Пример 3. Оценка влияния аффинности в отношении CD3 на свойства иллюстративных PSMA-нацеленных триспецифических молекул.

[00160] PSMA-нацеленные триспецифические молекулы с отличающимися CD3-связывающими доменами изучали для того, чтобы показать эффекты изменения аффинности в отношении CD3. Иллюстративная PSMA-нацеленная триспецифическая молекула показана на фиг. 1. В таблице 2 приведена аффинность каждой молекулы для трех партнеров по связыванию (PSMA, CD3, HSA). Показатели аффинности измеряли с помощью интерферометрии биослоя с применением прибора Octet (Pall Forté Bio). Сниженная аффинность в отношении CD3 приводит к потере эффективности в контексте опосредованной Т-клетками клеточной цитотоксичности (фигуры 2A-C). Фармакокинетические свойства таких триспецифических молекул оценивали у яванских макаков. Молекулы с высокой аффинностью в отношении CD3, как и TriTAC C236, характеризовались периодом полувыведения в конечной фазе примерно 90 ч (фиг. 3). Несмотря на измененную способность к связыванию CD3 на поверхности Т-клеток, период полувыведения в конечной фазе двух молекул с разными показателями аффинности в отношении CD3, показанными на фиг. 4, является очень похожим. Однако сниженная аффинность в отношении CD3, по-видимому, обуславливает больший объем распределения, что согласуется с уменьшением секвестрации триспецифической молекулы Т-клетками. В течение периода исследования не было отмечено неблагоприятных клинических наблюдений или изменений веса тела.

Таблица 2. Показатели аффинности связывания в отношении антигенов человека и яванского макака.

	Значение KD антитела к PSMA (нМ)			Значение KD антитела к альбумину (нМ)			Значение KD антитела к CD3e (нМ)		
	человек	яванский макак	соотношение значений у яванского макака/человека	pHSA	CSA	соотношение значений у яванского макака/человека	человек	яванский макак	соотношение значений у яванского макака/человека
ТгТАС, высокая афф., в качестве инструмента - C236	16,3	0	0	22,7	25,4	1,1	6,0	4,7	0,8
ТгТАС CD3, высокая афф. - C324	17,9	0	0	9,8	9,7	1	7,4	5,8	0,8
ТгТАС CD3, средняя афф. - C339	13,6	0	0	8,8	8,3	0,9	40,6	33,6	0,8
ТгТАС CD3, низкая афф. - C325	15,3	0	0	10,1	9,7	1	217	160	0,7

Пример 4. Оценка влияния аффинности в отношении PSMA на свойства иллюстративных PSMA-нацеленных триспецифических молекул.

[00161] PSMA-нацеленные триспецифические молекулы с отличающимися PSMA-связывающими доменами изучали для того, чтобы показать эффекты изменения аффинности в отношении PSMA. В таблице 3 приведена аффинность каждой молекулы для трех партнеров по связыванию (PSMA, CD3, HSA). Сниженная аффинность в отношении PSMA приводит к потере эффективности в контексте опосредованной Т-клетками клеточной цитотоксичности (фигуры 5A-C).

Таблица 3. Показатели аффинности связывания в отношении антигенов человека и яванского макака.

	Значение KD антитела к PSMA (нМ)			Значение KD антитела к альбумину (нМ)			Значение KD антитела к CD3ε (нМ)		
	человек	яванский макак	соотношение значений у яванского макака/человека	pHSA	CSA	соотношение значений у яванского макака/человека	человек	яванский макак	соотношение значений у яванского макака/человека
PSMA-TriTAC (p8)-C362	22,0	0	н.д.	6,6	6,6	1,0	8,3	4,3	0,52
PSMA-TriTAC (HDS) – C363	3,7	540	146	7,6	8,4	1,1	8,0	5,2	0,65
PSMA-TriTAC (HTS)-C364	0,15	663	4423	8,4	8,6	1,0	7,7	3,8	0,49

Пример 5. Эффективность иллюстративных PSMA-нацеленных триспецифических молекул *in vivo*.

[00162] Иллюстративную PSMA-нацеленную триспецифическую молекулу C324 оценивали в отношении ее способности ингибировать рост опухолей у мышей. Для этого эксперимента иммунодефицитным мышам, реконструированным с Т-клетками человека, подкожно инокулировали экспрессирующие PSMA клетки опухоли предстательной железы человека (22Rv1), и обрабатывали ежедневно в течение 10 дней 0,5 мг/кг i.v. либо PSMA-нацеленных BiTE, либо TriTAC-молекул. Рост опухоли измеряли в течение 30 дней. На протяжении эксперимента триспецифическая молекула была способна ингибировать рост опухоли с эффективностью, сравнимой с таковой в случае молекулы BiTE (фиг. 6).

Пример 6. Специфичность иллюстративных PSMA-нацеленных триспецифических молекул.

[00163] С целью оценки специфичности PSMA-нацеленных молекул TriTAC тестировали их способность индуцировать Т-клетки к уничтожению опухолевых клеток, с использованием опухолевых клеток, которые являются негативными по PSMA (фиг. 7A). EGFR-нацеленная молекула TriTAC служила в качестве положительного контроля, GFP-нацеленная молекула TriTAC служила в качестве отрицательного контроля. Для всех трех TriTAC с отличающимися PSMA-связывающими доменами наблюдали ожидаемую активность в отношении PSMA-положительной клеточной линии LNCaP (фиг. 7B), но не

достигались EC50 в PSMA-отрицательных опухолевых клеточных линиях KMS12BM и OVCAR8 (фигуры 7C и 7D). EC50 приведены в таблице 4. При очень высоких концентрациях TriTAC (> 1 нМ) могло наблюдаться некоторое ограниченное нецелевое уничтожение клеток в случае TriTAC C362 и C363, тогда как в случае C364 не наблюдали значимого уничтожения клеток ни в одном из тестируемых условий.

Таблица 4. Обеспечивающая уничтожение клеток активность молекул TriTAC в антиген-положительных и антиген-отрицательных опухолевых клеточных линиях (EC50 [пМ]).

TriTAC	LNCaP	KMS12BM	OVCAR8
PSMA p8 TriTAC C362	13,0	>10000	>10000
PSMA HDS TriTAC C363	6,2	>10000	>10000
PSMA HTS TriTAC C364	0,8	>10000	>10000
EGFR TriTAC C131	9,4	>10000	6
GFP TriTAC C	>10000	>10000	>10000

Пример 7. Стресс-тесты и стабильность белка.

[00164] Четыре PSMA-нацеленных триспецифических молекулы либо инкубировали в течение 48 ч в сыворотке крови яванского макака при низких концентрациях (33,3 мкг/мл), либо подвергали пяти циклам заморозания-оттаивания в сыворотке крови яванского макака. После обработки оценивали биологическую активность молекул TriTAC в анализах уничтожения клеток и сравнивали с образцами, не подвергавшимися стрессу («положительный контроль», фиг. 8A-D). У всех молекул сохранялась большая часть их обеспечивающей уничтожение клеток активности. TriTAC C362 была наиболее устойчивой к стрессу, и, по-видимому, вовсе не теряла активность в условиях, тестируемых в данном случае.

Пример 8. Ксенотрансплантатная модель опухоли.

[00165] Иллюстративный PSMA-нацеленный триспецифический белок оценивали в ксенотрансплантатной модели.

[00166] Самцам иммунодефицитных мышей NCG в их дорзальную часть правого бока подкожно инокулировали 5×10^6 клеток 22Rv1. Если размер опухолей достигал 100-200 мм³, животных распределяли в 3 группы обработки. Группам 2 и 3 (по 8 животных в каждой) путем внутрибрюшинной инъекции вводили $1,5 \times 10^7$ активированных Т-клеток человека. Через три дня животных из группы 3 обрабатывали в общей сложности 9 внутривенными дозами 50 мкг иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка по настоящему раскрытию (qdx9d). Группы 1 и 2

обрабатывали только средой-носителем. Вес тела и объем опухоли определяли в течение 30 дней. Ожидается, что рост опухоли у мышей, обработанных PSMA-триспецифическим антигенсвязывающим белком, значительно уменьшается в сравнении с ростом опухоли в соответствующей контрольной группе, обработанной средой-носителем.

Пример 9. Протокол клинического исследования для подтверждения концепции для введения иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка пациентам с раком предстательной железы.

[00167] Речь идет о клиническом исследовании фазы I/II для изучения PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка из примера 1 в качестве лечения рака предстательной железы.

[00168] Исходы исследования:

[00169] *Первичные:* Максимальная переносимая доза PSMA-нацеленных триспецифических белков из предыдущих примеров

[00170] *Вторичные:* Определение того, ассоциирован ли *in vitro* ответ на PSMA-нацеленные триспецифические белки из предыдущих примеров с клиническим ответом

[00171] Фаза I

[00172] Максимальная переносимая доза (MTD) будет определяться в фазе I исследования.

1.1 Максимальная переносимая доза (MTD) будет определяться в фазе I исследования.

1.2 Пациенты, соответствующие критериям пригодности к участию, будут включены в исследование PSMA-нацеленных триспецифических белков из предыдущих примеров.

1.3 Целью является идентификация наиболее высокой дозы PSMA-нацеленных триспецифических белков из предыдущих примеров, которую можно вводить безопасно без серьезных или неконтролируемых побочных эффектов у участников. Вводимая доза будет зависеть от числа участников, ранее включенных в исследование, и от того, насколько хорошо доза переносилась. Не все участники будут получать одинаковую дозу.

[00173] Фаза II

2.1 В последующей второй фазе II участники будут получать лечение при MTD, при этом целью является определение того, обеспечивает ли терапия PSMA-нацеленными триспецифическими белками из предыдущих примеров по меньшей мере 20% частоту ответа.

Первичный исход для фазы II --- определение того, обеспечивает ли терапия PSMA-нацеленными триспецифическими белками из предыдущих примеров достижение клинического ответа по меньшей мере у 20% пациентов (взрывной ответ, минимальный ответ, частичный ответ или полный ответ)

[00174] Пригодность к участию:

Гистологически подтвержденный недавно диагностированный агрессивный рак предстательной железы в соответствии с действующей классификацией Всемирной организации здравоохранения, с 2001 по 2007

Любая стадия заболевания

Лечение доцетакселом и преднизолом (+/- хирургическое вмешательство).

Возраст ≥ 18 лет

Индекс общего состояния пациента по Карновскому $\geq 50\%$ или показатель общего состояния пациента по шкале ECOG 0-2

Ожидаемая продолжительность жизни ≥ 6 недель

Пример 10. Активность иллюстративного PSMA-нацеленного антигенсвязывающего белка (PSMA-нацеленной молекулы TriTAC) в анализах уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками с применением панели экспрессирующих PSMA клеточных линий и Т-клеток от разных доноров.

[00175] Это исследование осуществляли для того, чтобы продемонстрировать, что активность иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка не ограничивается клетками LNCaP или одним донором клеток.

[00176] Анализы уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками осуществляли с применением Т-клеток от четырех разных доноров и экспрессирующих PSMA человека клеточных линий рака предстательной железы VCaP, LNCaP, MDAPCa2b и 22Rv1. За одним исключением PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок был способен направлять уничтожение этих раковых клеточных линий с участием Т-клеток от всех доноров со значениями EC_{50} от 0,2 до 1,5 пМ, как показано в таблице 5. В случае клеточной линии рака предстательной железы 22 Rv1 и донора 24, наблюдали уничтожение от незначительного вплоть до его отсутствия (данные не показаны). Также у донора 24 обеспечивалось только примерно 50% уничтожение клеточной линии MDAPCa2b, тогда как Т-клетки от других 3 доноров обеспечивали почти полное уничтожение этой клеточной линии (данные не показаны). В контрольных анализах было продемонстрировано, что уничтожение с помощью PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка было PSMA-специфическим. В случае, когда экспрессирующие PSMA клетки обрабатывали

контрольным триспецифическим белком, нацеленным на зеленый флуоресцентный белок (GFP), а не на PSMA, уничтожение не наблюдали (данные не показаны). Аналогичным образом, PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок был неактивным в случае клеточных линий, у которых отсутствовала экспрессия PSMA, NCI-1563 и HCT116, также показано в таблице 5.

Таблица 5. Значения EC_{50} из анализов TDCC с шестью раковыми клеточными линиями человека и четырьмя разными донорами Т-клеток.

Клеточная линия	Значения EC_{50} (М) для TDCC			
	Донор 24	Донор 8144	Донор 72	Донор 41
LNCaP	1,5E-12	2,2E-13	3,6E-13	4,3E-13
MDAPCa2b	4,8E-12	4,1E-13	4,9E-13	6,5E-13
VCaP	6,4E-13	1,6E-13	2,0E-13	3,5E-13
22Rv1	н.д.	7,2E-13	1,4E-12	1,3E-12
HCT116	>1,0E-8	>1,0E-8	>1,0E-8	>1,0E-8
NCI-1563	>1,0E-8	>1,0E-8	>1,0E-8	>1,0E-8

Пример 11 Стимуляция экспрессии цитокинов иллюстративным PSMA-триспецифическим антигенсвязывающим белком (PSMA-нацеленной молекулой TriTAC) в анализах уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками.

[00177] Это исследование осуществляли для того, чтобы продемонстрировать активацию Т-клеток иллюстративным PSMA-триспецифическим антигенсвязывающим белком в ходе анализов уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками путем измерения секреции цитокина в среду для анализа активированными Т-клетками.

[00178] Кондиционированную среду, собранную после анализов уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками, как описано выше в примере 9, анализировали в отношении экспрессии цитокинов TNF α и IFN γ . Уровень цитокинов измеряли с применением анализов AlphaLISA (Perkin-Elmer). Добавление титра PSMA-нацеленного антигенсвязывающего белка к Т-клеткам от четырех разных доноров и четырех экспрессирующим PSMA клеточным линиям, LNCaP, VCaP, MDAPCa2b и 22Rv1, обеспечивало повышение уровней TNF α . Результаты по уровням экспрессии TNF α и экспрессии IFN γ в кондиционированной среде показаны в таблицах 6 и 7 соответственно. Значения EC_{50} для индуцированной PSMA-нацеленным антигенсвязывающим белком

экспрессии этих цитокинов находились в диапазоне от 3 до 15 пМ. В случае контрольного триспецифического GFP-нацеленного белка повышенные уровни цитокинов не наблюдали. Аналогичным образом, в случае, когда анализы осуществляли с использованием двух клеточных линий, у которых отсутствовала экспрессия PSMA, HCT116 и NCI-H1563, PSMA HTS TriTAC также не приводила к повышению уровней экспрессии TNF α или IFN γ .

Таблица 6. Значения EC₅₀ для экспрессии TNF α в среду из анализов индуцированной PSMA-триспецифическим антигенсвязывающим белком TDCC с шестью раковыми клеточными линиями человека и Т-клетками от четырех разных доноров.

Клеточная линия	Донор 24	Донор 8144	Донор 41	Донор 72
LNCaP	4,9E-12	2,8E-12	4,0E-12	3,2E-12
VCaP	3,2E-12	2,9E-12	2,9E-12	2,9E-12
MDAPCa2b	2,1E-11	4,0E-12	5,5E-12	3,6E-12
22Rv1	8,9E-12	2,5E-12	4,0E-12	3,3E-12
HCT116	>1E-8	>1E-8	>1E-8	>1E-8
NCI-H1563	>1E-8	>1E-8	>1E-8	>1E-8

Таблица 7. Значения EC₅₀ для экспрессии IFN γ в среду из анализов индуцированной PSMA-триспецифическим антигенсвязывающим белком TDCC с шестью раковыми клеточными линиями человека и Т-клетками от четырех разных доноров.

Клеточная линия	Донор 24	Донор 8144	Донор 41	Донор 72
LNCaP	4,2E-12	4,2E-12	4,2E-12	2,8E-12
VCaP	5,1E-12	1,5E-11	3,4E-12	4,9E-12
MDAPCa2b	1,5E-11	5,8E-12	9,7E-12	3,5E-12
22Rv1	7,8E-12	3,0E-12	9,1E-12	3,0E-12
HCT116	>1E-8	>1E-8	>1E-8	>1E-8
NCI-H1563	>1E-8	>1E-8	>1E-8	>1E-8

Пример 12. Активность иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка (PSMA-нацеленной TriTAC) в анализе уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками (TDCC) с применением Т-клеток от яванских макаков.

[00179] Это исследование осуществляли для тестирования способности иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка направлять Т-клетки от яванских макаков на уничтожение экспрессирующих PSMA клеточных линий.

[00180] Анализы TDCC проводили с применением мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) от яванских макаков. PBMC яванского макака добавляли к клеткам LNCaP в соотношении 10:1. Было показано, что PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок обеспечивал перенаправление уничтожения LNCaP PBMC яванского макака со значением EC_{50} 11 пМ. Результат показан на фиг. 9А. Для подтверждения этих результатов применяли вторую клеточную линию, MDAPCa2b, и тестировали PBMC от второго донора-яванского макака. Перенаправленное уничтожение клеток-мишеней наблюдали со значением EC_{50} 2,2 пМ. Результат показан на фиг. 9В. Уничтожение было специфическим для PSMA-связывающего плеча PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка, так как уничтожение в случае триспецифического GFP-нацеленного белка в качестве отрицательного контроля не наблюдали. Из этих данных видно, что PSMA-нацеленный антигенсвязывающий триспецифический белок может направлять Т-клетки яванского макака на уничтожение клеток-мишеней, экспрессирующих PSMA человека.

Пример 13. Экспрессия маркеров активации Т-клеток в анализах уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками с использованием иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка (PSMA-нацеленной молекулы TriTAC).

[00181] Это исследование осуществляли для оценки того, активировались ли Т-клетки в случае, когда иллюстративный PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок направлял Т-клетки на уничтожение клеток-мишеней.

[00182] Анализы проводили с применением условий для анализов уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками, описанных в примере выше. Активацию Т-клеток оценивали путем измерения уровней экспрессии CD25 и CD69 на поверхности Т-клеток с применением проточной цитометрии. PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок добавляли к смеси очищенных Т-клеток человека и клеточной линии рака предстательной железы VCaP 10:1. После добавления возрастающих количеств PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка наблюдали повышенный уровень экспрессии CD69 и экспрессии CD25, как показано на фиг. 10. Значение EC_{50} составляло 0,3 пМ для CD69 и 0,2 пМ для CD25. Триспецифический GFP-нацеленный белок был включен в эти анализы в качестве отрицательного контроля, и в случае GFP-нацеленного

триспецифического белка наблюдали повышение уровня экспрессии CD69 или CD25 от незначительного вплоть до его отсутствия, также показано на фиг. 10.

Пример 14. Стимуляция пролиферации Т-клеток иллюстративным PSMA-триспецифическим антигенсвязывающим белком (PSMA-нацеленной молекулой TriTAC) в присутствии экспрессирующих PSMA клеток-мишеней.

[00183] Это исследование применяли в качестве дополнительного способа для демонстрации того, что иллюстративный PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок был способен активировать Т-клетки при перенаправлении их на уничтожение клеток-мишеней.

[00184] Анализы пролиферации Т-клеток проводили с применением условий для анализа уничтожения клеток перенаправленными Т-клетками с применением клеток-мишеней LNCaP, как описано выше, и измерения числа Т-клеток, присутствующих через 72 часа. Иллюстративный PSMA-триспецифический антигенсвязывающий белок обеспечивал стимуляцию пролиферации со значением EC_{50} 0,5 пМ. Триспецифический GFP-нацеленный белок был включен в анализ в качестве отрицательного контроля, и в случае этого белка повышение степени пролиферации не наблюдали. Результаты анализа пролиферации Т-клеток показаны на фиг. 11.

Пример 15. Уничтожение перенаправленными Т-клетками клеток LNCaP, обусловленное иллюстративными PSMA-триспецифическими антигенсвязывающими белками (PSMA-нацеленной молекулой TriTAC Z2).

[00185] Это исследование осуществляли для тестирования способности иллюстративного PSMA-триспецифического антигенсвязывающего белка с последовательностью, представленной в SEQ ID No: 156, перенаправлять Т-клетки на уничтожение клеточной линии LNCaP.

[00186] В анализах TDCC, проведенных как описано в примерах выше, белок PSMA Z2 TriTAC (SEQ ID NO: 156) обеспечивал перенаправление уничтожения со значением EC_{50} 0,8 пМ, как показано на фиг. 12.

Таблица 8.

<u>SEQ ID No.</u>	<u>Последовательность</u>
SEQ ID NO: 1	RFMISX ₁ YX ₂ MH
SEQ ID NO: 2	X ₃ INPAX ₄ X ₅ TDYAE ₆ VKG
SEQ ID NO: 3	DX ₇ YGY
SEQ ID NO: 4	EVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASRFMISEYSMHWVRQAPGKGLEWVS TINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDGY GYRGQGTQVTVSS
SEQ ID NO: 5	RFMISEYHMH
SEQ ID NO: 6	RFMISPYSMH
SEQ ID NO: 7	RFMISPYHMH
SEQ ID NO: 8	DINPAGTTDYAESVKG
SEQ ID NO: 9	TINPAKTTDYAESVKG
SEQ ID NO: 10	TINPAGQTDYAESVKG
SEQ ID NO: 11	TINPAGTTDYAEYVKG
SEQ ID NO: 12	DINPAKTTDYAESVKG
SEQ ID NO: 13	DINPAGQTDYAESVKG
SEQ ID NO: 14	DINPAGTTDYAEYVKG
SEQ ID NO: 15	DSYGY
SEQ ID NO: 16	RFMISEYSMH
SEQ ID NO: 17	TINPAGTTDYAESVKG
SEQ ID NO: 18	DGYGY
SEQ ID NO: 19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYSMHWVRQAPGKGLEWVS TINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDGY GYRGQGT _L TVSS
SEQ ID NO: 20	MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWFIKSSNEA TNITPKHNMKAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQW KEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTSLFEP _{PP} PGYEN VSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVAR YGKVFRGNKVKNAQLAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLP _{GG} VQRGNILNLNGAGDPLTPGYPANAYARRGIAEAVGLPSIPVHPIGY _Y DAQ KLEKMGG _S APPDSSWRGSLKVPYNVGP _G FTGNFSTQKV _K MHIHSTNEV TRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAV _V HEIVRSFG TLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFLLGSTEWAEENSRL _L QERGVAYINAD SSIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNLT _K ELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSP EFSGM _P RISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHS VYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMV _F ELANSIVLPFDCRDYAVV

	LRKYADKIYSISMKHPQEMKTYSVSFDSLFSVKNFTEIASKFSERLQDFD KSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHNKYAGESF PGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA
SEQ ID NO: 21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYHMHVVRQAPGKGLEWVS DINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSYG YRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYHMHVVRQAPGKGLEWVS TINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSYG YRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYSMHVVRQAPGKGLEWVS TINPAKTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSYG YRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISPYSMHVVRQAPGKGLEWVS TINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDGY GYRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYSMHVVRQAPGKGLEWVS TINPAGQTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDGY GYRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYSMHVVRQAPGKGLEWVS TINPAGTTDYAEYVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDGY GYRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYHMHVVRQAPGKGLEWVS DINPAKTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSYG YRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISPYHMHVVRQAPGKGLEWVS DINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSYG YRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYHMHVVRQAPGKGLEWVS DINPAGQTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSY GYRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYHMHVVRQAPGKGLEWVS DINPAGTTDYAEYVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSY GYRGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYHMHVVRQAPGKGLEWVS DINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDSYG YRGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 32	EVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASRFMISEYHMHVWRQAPGKGLEWVS TINPAGTTDYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDSYG YRGQGTQVTVSS
---------------	---

Таблица 9. Последовательности CD3-связывающего домена.

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
34	CD3-связывающая, клон 2B2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAP GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPA RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGG GTKLTVL
35	CD3-связывающая, клон 9F2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFENKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSFAGVTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYDNRWVFGG GTKLTVL
36	CD3-связывающая, клон 5A2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSHISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGYVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTSFLAPGTPA RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWIFGGG TKLTVL
37	CD3-связывающая, клон 6A2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFMFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKSNKYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSFAGVTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKLLAPGTPA RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNSWVFGG GTKLTVL
38	CD3-связывающая, клон 2D2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYKDSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSPISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVLTC GSSTGAVVSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTEFLAPGTPA RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
39	CD3-связывающая, клон 3F2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTY NKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADEVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSPISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSKGA VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKELAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWV FGGGTKLTVL
40	CD3-связывающая, клон 1A2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGNTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYETYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHTNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGG TYFLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVL
41	CD3-связывающая, клон 1C2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADAVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSQISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTDGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG IKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVL
42	CD3-связывающая, клон 2E4	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAVNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGESTGA VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKILAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVL
43	CD3-связывающая, клон 10E4	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYPMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKNEDTAVYYCVRHGNFNNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTKGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKMLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWV FGGGTKLTVL
44	CD3-связывающая, клон 2H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADEVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSPISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VVSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TEFLAPGTPAR

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
		FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKLTVL
45	CD3-связывающая, клон 2A4	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGNTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGDSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTHGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKVLAPGTPA RFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
46	CD3-связывающая, клон 10B2	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSGYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSYTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFNAPGTPA RFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYANRWVFGG GTKLTVL
47	CD3-связывающая, клон 1G4	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFEFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYETYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSLISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSSGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFAGP GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
48	CD3-связывающая, wt	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPA RFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
49	CD3-связывающая CDR1 HC wt	GFTFNKYAMN
50	CD3-связывающая CDR2 HC wt	RIRSKYNNYATYYADSVK
51	CD3-связывающая CDR3 HC wt	HGNFGNSYISYWAY
53	CD3-связывающая CDR1 LC wt	GSSTGAVTSGNYPN

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
54	CD3-связывающая CDR2 LC wt	GTKFLAP
55	CD3-связывающая CDR3 LC wt	VLWYSNRWV
56	Вариант 1 CDR1 HC	GNTFNKYAMN
57	Вариант 2 CDR1 HC	GFEFNKYAMN
58	Вариант 3 CDR1 HC	GFMFNKYAMN
59	Вариант 4 CDR1 HC	GFTYNKYAMN
60	Вариант 5 CDR1 HC	GFTFNKYAMN
61	Вариант 6 CDR1 HC	GFTFNGYAMN
62	Вариант 7 CDR1 HC	GFTFNTYAMN
63	Вариант 8 CDR1 HC	GFTFNEYAMN
64	Вариант 9 CDR1 HC	GFTFNKYPMN
65	Вариант 10 CDR1 HC	GFTFNKYAVN
66	Вариант 11 CDR1 HC	GFTFNKYAIN
67	Вариант 12 CDR1 HC	GFTFNKYALN
68	Вариант 1 CDR2 HC	RIRSGYNKYATYYADSVK
69	Вариант 2 CDR2 HC	RIRSKSNKYATYYADSVK
70	Вариант 3 CDR2 HC	RIRSKYNKYATYYADSVK
71	Вариант 4 CDR2 HC	RIRSKYNKYETYYADSVK
72	Вариант 5 CDR2 HC	RIRSKYNKYATEYADSVK
73	Вариант 6 CDR2 HC	RIRSKYNKYATYYKDSVK
74	Вариант 7 CDR2 HC	RIRSKYNKYATYYADEVK
75	Вариант 8 CDR2 HC	RIRSKYNKYATYYADAVK
76	Вариант 9 CDR2 HC	RIRSKYNKYATYYADQVK
77	Вариант 10 CDR2 HC	RIRSKYNKYATYYADDVK
78	Вариант 1 CDR3 HC	HANFGNSYISYWAY
79	Вариант 2 CDR3 HC	HTNFGNSYISYWAY
80	Вариант 3 CDR3 HC	HGNFNNSYISYWAY
81	Вариант 4 CDR3 HC	HGNFGDSYISYWAY
82	Вариант 5 CDR3 HC	HGNFGNSHISYWAY
83	Вариант 6 CDR3 HC	HGNFGNSPISYWAY
84	Вариант 7 CDR3 HC	HGNFGNSQISYWAY
85	Вариант 8 CDR3 HC	HGNFGNSLISYWAY

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
86	Вариант 9 CDR3 HC	HGNFGNSGISYWAY
87	Вариант 10 CDR3 HC	HGNFGNSYISYWAT
88	Вариант 1 CDR1 LC	ASSTGAVTSGNYPN
89	Вариант 2 CDR1 LC	GESTGAVTSGNYPN
90	Вариант 3 CDR1 LC	GSYTGAVTSGNYPN
91	Вариант 4 CDR1 LC	GSSFAGVTSGNYPN
92	Вариант 5 CDR1 LC	GSSKGAVTSGNYPN
93	Вариант 6 CDR1 LC	GSSSGAVTSGNYPN
94	Вариант 7 CDR1 LC	GSSTGYVTSGNYPN
95	Вариант 8 CDR1 LC	GSSTGAVVSGNYPN
96	Вариант 9 CDR1 LC	GSSTGAVTDGNYPN
97	Вариант 10 CDR1 LC	GSSTGAVTKGNYPN
98	Вариант 11 CDR1 LC	GSSTGAVTHGNYPN
99	Вариант 12 CDR1 LC	GSSTGAVTVGNYPN
100	Вариант 13 CDR1 LC	GSSTGAVTSGYYPN
101	Вариант 1 CDR2 LC	GKFLAP
102	Вариант 2 CDR2 LC	GTEFLAP
103	Вариант 3 CDR2 LC	GTYFLAP
104	Вариант 4 CDR2 LC	GTSFLAP
105	Вариант 5 CDR2 LC	GTNFLAP
106	Вариант 6 CDR2 LC	GTKLLAP
107	Вариант 7 CDR2 LC	GTKELAP
108	Вариант 8 CDR2 LC	GTKILAP
109	Вариант 9 CDR2 LC	GTKMLAP
110	Вариант 10 CDR2 LC	GTKVLAP
111	Вариант 11 CDR2 LC	GTKFNAP
112	Вариант 12 CDR2 LC	GTKFGAP
113	Вариант 13 CDR2 LC	GTKFLVP
114	Вариант 1 CDR3 LC	TLWYSNRWV
115	Вариант 2 CDR3 LC	ALWYSNRWV
116	Вариант 3 CDR3 LC	VLWYDNRWV
117	Вариант 4 CDR3 LC	VLWYANRWV
118	Вариант 5 CDR3 LC	VLWYSNSWV
119	Вариант 6 CDR3 LC	VLWYSNRWI

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
120	Вариант 7 CDR3 LC	VLWYSNRWA
121	CD3-связывающая, клон 2G5	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYALNWVRQAP GKGLEWVARIRSKYNNYATEYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSPISYWAYWGQGLTVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCG SSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTNFLAPGTPERFS GSLGGAALTLGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWAFGGGTK LTVL
122	CD3-связывающая, клон 8A5	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNEYAMNWVRQA PGKLEWVARIRSKYNNYATYYADDVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSGISYWAYWGQGLT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTVGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTEFLAPGTPA RFSGSLGGAALTLGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL

Таблица 10. Последовательности HSA-связывающего домена.

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
123	sdAb к HSA, клон 6C	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSRFGMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGDTLYADSVKGRFTISRDNATTLTYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
124	sdAb к HSA, клон 7A	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGADTLYADSLKGRFTISRDNATTLTYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSKSSQGTLTVSS
125	sdAb к HSA, клон 7G	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTYSSFGMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGDTLYADSVKGRFTISRDNATTLTYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSKSSQGTLTVSS
126	sdAb к HSA, клон 8H	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGDTLYADSVKGRFTISRDNATTLTYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
127	sdAb к HSA, клон 9A	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSRFGMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGDTLYADSVKGRFTISRDNATTLTYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSKSSQGTLTVSS

<u>SEQ ID NO:</u>	<u>Описание</u>	<u>Аминокислотная последовательность</u>
128	sdAb к HSA, клон 10G	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL EWWSSISGSGRDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSVSSQGTLVTVSS
129	HSA-связывающая, wt	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGL EWWSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
130	HSA-связывающая CDR1 wt	GFTFSFGMS
131	HSA-связывающая CDR2 wt	SISGSGSDTLYADSVK
132	HSA-связывающая CDR3 wt	GGSLSR
133	Вариант 1 CDR1	GFTFSRFGMS
134	Вариант 2 CDR1	GFTFSKFGMS
135	Вариант 3 CDR1	GFTYSSFGMS
136	Вариант 1 CDR2	SISGSGADTLYADSLK
137	Вариант 2 CDR2	SISGSGTDTLYADSVK
138	Вариант 3 CDR2	SISGSGRDTLYADSVK
139	Вариант 4 CDR2	SISGSGSDTLYAESVK
140	Вариант 5 CDR2	SISGSGTDTLYAESVK
141	Вариант 6 CDR2	SISGSGRDTLYAESVK
142	Вариант 1 CDR3	GGSLSK
143	Вариант 2 CDR3	GGSLSV
144	sdAb к HSA, клон 6CE	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSRFGMSWVRQAPGKGL EWWSSISGSGSDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
145	sdAb к HSA, клон 8HE	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL EWWSSISGSGTDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
146	sdAb к HSA, клон 10GE	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL EWWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSVSSQGTLVTVSS

Таблица 11. Последовательности PSMA-нацеленного триспецифического белка.

SEQ ID NO:	С-номер	Конструкция	Последовательность
147	C00324	PSMA TriTAC CD3, высокая афф.	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYSMHWV RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDGYGYRGQGTQVTVS SGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN KTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVS SGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVP GTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCTLWYS NRWVFGGGTKLTVLHHHHHHH
148	C00339	PSMA TriTAC CD3, средняя афф.	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYSMHWV RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDGYGYRGQGTQVTVS SGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSGYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTV SSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL TCGSYTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFN APGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLW YANRWVFGGGTKLTVLHHHHHHH
149	C00325	PSMA TriTAC CD3, низкая афф.	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYSMHWV RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDGYGYRGQGTQVTVS SGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYETYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSLISYWAYWGQGTLLTV SSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL TCGSSSGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFGA PGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVLHHHHHHH
150	C00236	PSMA TriTAC в качестве инструмента	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYSMHWV RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDGYGYRGQGTQVTVS SGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGF TFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTV SSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL

SEQ ID NO:	C-номер	Конструкция	Последовательность
			TCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLA PGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWY SNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
151	C00362	PSMA p8 TriTAC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFMISEYSMHVW RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDGYGYRGQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVP GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYS NRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
152	C00363	PSMA HDS TriTAC C363	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYHMHVW RQAPGKGLEWVSDINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDSYGYRGQGTQVTVS SGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVP GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYS NRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
153	C00364	PSMA HTS TriTAC C364	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYHMHVW RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCDSYGYRGQGTQVTVS SGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVP GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYS NRWVFGGGTKLTVLHHHHHH

SEQ ID NO:	C-номер	Конструкция	Последовательность
154	C00298	PSMA BiTE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYW VRQAPGKGLEWVAIISDGGYYTYYSIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDY WGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYY CQQYDSYPYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
155	C00131	EGFR TriTAC	QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGW FRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDN AKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYE YDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGNSLRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSI SGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDN DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPG QAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQ PEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
156	C00410	PSMA Z2 TriTAC	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASRFMISEYHMHVW RQAPGKGLEWVSTINPAGTTDYAESVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCDSYGYRGQGTLLTVS SGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGF TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSV KGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SVSSQGTLLTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNL KTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVS SGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLVLP GTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCTLWYS NRWVFGGGTKLTVLHHHHHH

Таблица 12. Иллюстративные каркасные последовательности.

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
165	Каркас (f1)	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAAS
166	Каркас (f2)	WVRQAPGKGLEWVS
167	Каркас (f3)	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
168	Каркас (f4)	DGYGYRGQGTLLTVSS

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> ХАРПУН ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.

<120> БЕЛОК, СВЯЗЫВАЮЩИЙ ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ МЕМБРАННЫЙ АНТИГЕН

<130> 47517-707.601

<140>

<141>

<150> 62/426,086

<151> 2016-11-23

<160> 168

<170> PatentIn версии 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Glu, Pro, Ser, His, Thr, Asp, Gly, Lys, Gln или Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Glu, Pro, Ser, His, Thr, Asp, Gly, Lys, Gln или Tyr

<400> 1

Arg	Phe	Met	Ile	Ser	Xaa	Tyr	Xaa	Met	His
1				5					10

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Glu, Pro, Ser, His, Thr, Asp, Gly, Lys, Gln или Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(7)

<223> Glu, Pro, Ser, His, Thr, Asp, Gly, Lys, Gln или Tyr

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Glu, Pro, Ser, His, Thr, Asp, Gly, Lys, Gln или Tyr

 <400> 2
 Xaa Ile Asn Pro Ala Xaa Xaa Thr Asp Tyr Ala Glu Xaa Val Lys Gly
 1 5 10 15

 <210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Glu, Pro, Ser, His, Thr, Asp, Gly, Lys, Gln или Tyr

 <400> 3
 Asp Xaa Tyr Gly Tyr
 1 5

 <210> 4
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

 <400> 4
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

 Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
 20 25 30

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

 Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
 50 55 60

 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

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

 Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 5
Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr His Met His
1 5 10

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

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 6
Arg Phe Met Ile Ser Pro Tyr Ser Met His
1 5 10

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

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 7
Arg Phe Met Ile Ser Pro Tyr His Met His
1 5 10

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 8
Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 9

Thr Ile Asn Pro Ala Lys Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 10

Thr Ile Asn Pro Ala Gly Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 11

Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Tyr Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 12

Asp Ile Asn Pro Ala Lys Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 13

Asp Ile Asn Pro Ala Gly Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 14
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 14
 Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Tyr Val Lys Gly
 1 5 10 15

 <210> 15
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 15
 Asp Ser Tyr Gly Tyr
 1 5

 <210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 16
 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr Ser Met His
 1 5 10

 <210> 17
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 17
 Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

 <210> 18
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический

пептид

<400> 18

Asp Gly Tyr Gly Tyr
1 5

<210> 19

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 19

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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 20

<211> 750

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 20

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1 5 10 15

Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
20 25 30

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu

35

40

45

Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
50 55 60

Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
65 70 75 80

Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
85 90 95

Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
100 105 110

Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
115 120 125

Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
130 135 140

Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145 150 155 160

Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
165 170 175

Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
180 185 190

Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
195 200 205

Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly
210 215 220

Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
225 230 235 240

Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
245 250 255

Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
260 265 270

Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly
275 280 285

Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys

290

295

300

Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg
 305 310 315 320

Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
 325 330 335

Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val
 340 345 350

Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
 355 360 365

Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
 370 375 380

Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
 385 390 395 400

Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
 405 410 415

Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
 420 425 430

Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
 435 440 445

Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
 450 455 460

Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu
 465 470 475 480

Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
 485 490 495

Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
 500 505 510

Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
 515 520 525

Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
 530 535 540

Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu

545				550				555				560			
Leu	Val	Glu	Lys	Phe 565	Tyr	Asp	Pro	Met	Phe 570	Lys	Tyr	His	Leu	Thr 575	Val
Ala	Gln	Val	Arg 580	Gly	Gly	Met	Val	Phe 585	Glu	Leu	Ala	Asn	Ser 590	Ile	Val
Leu	Pro	Phe 595	Asp	Cys	Arg	Asp	Tyr 600	Ala	Val	Val	Leu	Arg 605	Lys	Tyr	Ala
Asp	Lys 610	Ile	Tyr	Ser	Ile	Ser 615	Met	Lys	His	Pro	Gln 620	Glu	Met	Lys	Thr
Tyr 625	Ser	Val	Ser	Phe	Asp 630	Ser	Leu	Phe	Ser	Ala 635	Val	Lys	Asn	Phe	Thr 640
Glu	Ile	Ala	Ser	Lys 645	Phe	Ser	Glu	Arg	Leu 650	Gln	Asp	Phe	Asp	Lys 655	Ser
Asn	Pro	Ile	Val 660	Leu	Arg	Met	Met	Asn 665	Asp	Gln	Leu	Met	Phe 670	Leu	Glu
Arg	Ala	Phe 675	Ile	Asp	Pro	Leu	Gly 680	Leu	Pro	Asp	Arg	Pro 685	Phe	Tyr	Arg
His	Val 690	Ile	Tyr	Ala	Pro	Ser 695	Ser	His	Asn	Lys	Tyr 700	Ala	Gly	Glu	Ser
Phe 705	Pro	Gly	Ile	Tyr	Asp 710	Ala	Leu	Phe	Asp	Ile 715	Glu	Ser	Lys	Val	Asp 720
Pro	Ser	Lys	Ala	Trp 725	Gly	Glu	Val	Lys	Arg 730	Gln	Ile	Tyr	Val	Ala 735	Ala
Phe	Thr	Val	Gln 740	Ala	Ala	Ala	Glu	Thr 745	Leu	Ser	Glu	Val	Ala 750		

```
<210> 21
<211> 111
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
```

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 21
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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 22

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 22

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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 23

<211> 111
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 23

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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Lys Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 24

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 24

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 Arg Phe Met Ile Ser Pro Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

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

20

25

30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Tyr Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

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

Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 27

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 полипептид

<400> 27

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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
 20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Lys Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 28

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 28

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 Arg Phe Met Ile Ser Pro Tyr
20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 29

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 29

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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Gly Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 30

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 30

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 Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Tyr Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 31

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 31

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 32

<211> 111

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 32

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетическая
6xHis-метка

<400> 33

His His His His His His
1 5

<210> 34

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 34

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 Ile 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

Gln 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 Ala 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 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 Ala 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 Val 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 Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245

<210> 35

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 35

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 Glu 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 Lys 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 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 Phe 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 Asp Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 36

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<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 His 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	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	Tyr	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	Ser	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	Ile	Phe	
225					230					235					240	
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu								
				245												
<210> 37																
<211> 249																
<212> PRT																
<213> Искусственная последовательность																
<220>																
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид																
<400> 37																
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	Met	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	Ser	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 Thr 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 Phe 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 Leu 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 Ser Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 38

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 38

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 Thr 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 Lys 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 Pro 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 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 Val 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 Glu 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> 39

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 39

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 Tyr 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

Glu 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 Pro 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 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 Lys 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 Glu 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 Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 40

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 40

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 Asn 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 Glu 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 Thr 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 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 Tyr 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 Tyr 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> 41

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 полипептид

<400> 41

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 Asn 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

Ala 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 Gln 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 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 Asp 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

Ile 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> 42

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 42

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 Val 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 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 Glu 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 Ile 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> 43

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 43

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

Pro 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 Asn Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Asn 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 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 Lys 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 Met 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 Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 44

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 44

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 Gly 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

Glu 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 Pro 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 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 Val 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 Glu 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> 45

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 45

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 Asn 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 Asp 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 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 His 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 Val 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> 46
<211> 249
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 46

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 Asn 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 Gly 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 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 Tyr 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 Asn 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 Ala Asn Arg Trp Val Phe
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245

<210> 47

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 полипептид

<400> 47

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 Glu 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 Glu 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 Leu 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 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 Ser 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 Gly 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> 48

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 48

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 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> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 пептид

<400> 49

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn
 1 5 10

<210> 50

<211> 18

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 пептид

<400> 50

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15

Val Lys

<210> 51

<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 51
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 52
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 52
Leu Pro Glu Thr Gly
1 5

<210> 53
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 53
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 54
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 55
Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 56
Gly Asn Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 57
Gly Phe Glu Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 58
Gly Phe Met Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 59
Gly Phe Thr Tyr Asn Lys Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 60

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 61

Gly Phe Thr Phe Asn Gly Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 62

Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 63

Gly Phe Thr Phe Asn Glu Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 64

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Pro Met Asn

1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 65
Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Val Asn
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 66
Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 67
Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 68
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 68
Arg Ile Arg Ser Gly Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys

<210> 69

<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 69

Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys

<210> 70
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 70

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Lys Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys

<210> 71
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 71

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys

<210> 72
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 72

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys

<210> 73
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 73
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys

<210> 74
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 74
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Glu
1 5 10 15

Val Lys

<210> 75
<211> 18
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 75
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ala
1 5 10 15

Val Lys

<210> 76
<211> 18
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 76

Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Gln
1				5					10					15	

Val Lys

<210> 77

<211> 18

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 77

Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Asp
1				5					10					15	

Val Lys

<210> 78

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 78

His	Ala	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr
1				5					10				

<210> 79

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 79

His	Thr	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr
1				5					10				

<210> 80

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 80

His Gly Asn Phe Asn Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 81

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 81

His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 82

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 82

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser His Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 83

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 83

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Pro Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 84

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 84

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Gln Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1

5

10

<210> 85

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 85

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Leu Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1

5

10

<210> 86

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 86

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Gly Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr

1

5

10

<210> 87

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 87

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Thr

1

5

10

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 88

Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

1

5

10

<210> 89

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 89
Gly Glu Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 90
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 90
Gly Ser Tyr Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 91
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 91
Gly Ser Ser Phe Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 92
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 92
Gly Ser Ser Lys Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 93
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 93
Gly Ser Ser Ser Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 94
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 94
Gly Ser Ser Thr Gly Tyr Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 95
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 95
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Val Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 96
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 96
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Asp Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 97
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 97
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Lys Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 98
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

пептид

<400> 98

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr His Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 99

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 99

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Val Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 100

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 100

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 101

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 101

Gly Ile Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 102

Gly Thr Glu Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 103

<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 103
Gly Thr Tyr Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 104
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 104
Gly Thr Ser Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 105
Gly Thr Asn Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 106
Gly Thr Lys Leu Leu Ala Pro
1 5

<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 107
Gly Thr Lys Glu Leu Ala Pro
1 5

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 108
Gly Thr Lys Ile Leu Ala Pro
1 5

<210> 109
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 109
Gly Thr Lys Met Leu Ala Pro
1 5

<210> 110
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 110
Gly Thr Lys Val Leu Ala Pro
1 5

<210> 111
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 111
Gly Thr Lys Phe Asn Ala Pro
1 5

<210> 112
<211> 7
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 112

Gly Thr Lys Phe Gly Ala Pro
1 5

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 113

Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro
1 5

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 114

Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 115

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 115

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 116

Val Leu Trp Tyr Asp Asn Arg Trp Val

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 117

Val Leu Trp Tyr Ala Asn Arg Trp Val

1

5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 118

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Ser Trp Val

1

5

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 119

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Ile

1

5

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 120

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Ala

1

5

<210> 121

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 121

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 Leu 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 Glu 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 Pro 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 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 Asn Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Glu 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 Ala Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 122

<211> 249

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 122

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 Glu 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

Asp 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 Gly 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 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 Val 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 Glu 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> 123

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 полипептид

<400> 123

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 124

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

полипептид

<400> 124

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ala Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Lys Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 125

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 125

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Lys Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 126

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 126

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 127

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 127

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Lys Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 128

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 128

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 129

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 полипептид

<400> 129

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
 пептид

<400> 130

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser

1 5 10

<210> 131
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 131
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

<210> 132
<211> 6
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 132
Gly Gly Ser Leu Ser Arg
1 5

<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 133
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Phe Gly Met Ser
1 5 10

<210> 134
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 134
Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser
1 5 10

<210> 135
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 135
 Gly Phe Thr Tyr Ser Ser Phe Gly Met Ser
 1 5 10

<210> 136
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 136
 Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ala Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Leu Lys
 1 5 10 15

<210> 137
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 137
 Ser Ile Ser Gly Ser Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

<210> 138
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 138
 Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

<210> 139
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 139
 Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys
 1 5 10 15

<210> 140
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 140
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15

<210> 141
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 141
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15

<210> 142
<211> 6
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 142
Gly Gly Ser Leu Ser Lys
1 5

<210> 143
<211> 6
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 143
Gly Gly Ser Leu Ser Val
1 5

<210> 144
<211> 115
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический

полипептид

<400> 144

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 145

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 145

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 146

<211> 115

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 146

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 147

<211> 499

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 147

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
165 170 175

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

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
210 215 220

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
245 250 255

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
260 265 270

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
275 280 285

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
305 310 315 320

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
325 330 335

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
340 345 350

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
385 390 395 400

Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
405 410 415

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
420 425 430

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
435 440 445

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
450 455 460

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn
465 470 475 480

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His
485 490 495

His His His

<210> 148
<211> 499
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 148

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
165 170 175

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

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val

210					215					220					
Ser 225	Ser	Gln	Gly	Thr	Leu 230	Val	Thr	Val	Ser	Ser 235	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 240
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu 245	Val	Gln	Leu	Val	Glu 250	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu 255	Val
Gln	Pro	Gly	Gly 260	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser 265	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly 270	Phe	Thr
Phe	Asn	Asn 275	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp 280	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly 285	Lys	Gly
Leu	Glu 290	Trp	Val	Ala	Arg	Ile 295	Arg	Ser	Gly	Tyr	Asn 300	Asn	Tyr	Ala	Thr
Tyr 305	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val 310	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr 315	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp 320
Ser	Lys	Asn	Thr	Ala 325	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn 330	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu 335	Asp
Thr	Ala	Val	Tyr 340	Tyr	Cys	Val	Arg	His 345	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn 350	Ser	Tyr
Ile	Ser	Tyr 355	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly 360	Gln	Gly	Thr	Leu	Val 365	Thr	Val	Ser
Ser	Gly 370	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 375	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 380	Gly	Gly	Gly	Ser
Gln 385	Thr	Val	Val	Thr	Gln 390	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr 395	Val	Ser	Pro	Gly	Gly 400
Thr	Val	Thr	Leu	Thr 405	Cys	Gly	Ser	Tyr	Thr 410	Gly	Ala	Val	Thr	Ser 415	Gly
Asn	Tyr	Pro	Asn 420	Trp	Val	Gln	Gln	Lys 425	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly
Leu	Ile	Gly 435	Gly	Thr	Lys	Phe	Asn 440	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
Ser	Gly 450	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly 455	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr 460	Leu	Ser	Gly	Val
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ala	Asn

465											470											475											480
Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	His	His	His																		
				485					490																								
His	His	His																															
<210> 149																																	
<211> 499																																	
<212> PRT																																	
<213> Искусственная последовательность																																	
<220>																																	
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид																																	
<400> 149																																	
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly																		
1				5					10					15																			
Ser	Leu	Thr	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Arg	Phe	Met	Ile	Ser	Glu	Tyr																		
			20				25				30																						
Ser	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val																		
		35				40				45																							
Ser	Thr	Ile	Asn	Pro	Ala	Gly	Thr	Thr	Asp	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys																		
	50					55				60																							
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu																		
65					70				75				80																				
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Asp																		
				85				90				95																					
Gly	Tyr	Gly	Tyr	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly																		
			100				105				110																						
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly																		
		115				120				125																							
Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Asn	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala																		
	130					135				140																							
Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Lys	Phe	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala																		
145					150				155				160																				
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Arg																		
				165				170				175																					

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

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
210 215 220

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
245 250 255

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Glu
260 265 270

Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
275 280 285

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Glu Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
305 310 315 320

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
325 330 335

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Leu
340 345 350

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
385 390 395 400

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Ser Gly Ala Val Thr Ser Gly
405 410 415

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
420 425 430

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Gly Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
435 440 445

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
450 455 460

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
465 470 475 480

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His
485 490 495

His His His

<210> 150

<211> 499

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 150

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala

130						135						140					
Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala		
145					150					155					160		
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser		
				165					170					175			
Asp	Thr	Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg		
			180					185					190				
Asp	Asn	Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro		
		195					200					205					
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Arg		
	210					215					220						
Ser	Ser	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
225					230					235					240		
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val		
				245					250					255			
Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr		
			260					265					270				
Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly		
		275					280					285					
Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr		
	290					295					300						
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp		
305					310					315					320		
Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp		
				325					330					335			
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr		
			340					345					350				
Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser		
		355					360					365					
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
	370					375					380						
Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly		

385					390					395					400
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly
				405					410					415	
Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly
			420					425					430		
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
		435					440					445			
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val
	450					455					460				
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn
465					470					475					480
Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	His	His	His
				485					490					495	
His	His	His													
<210>		151													
<211>		499													
<212>		PRT													
<213>		Искусственная последовательность													
<220>															
<223>		Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид													
<400>		151													
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	Arg	Phe	Met	Ile	Ser	Glu	Tyr
			20					25					30		
Ser	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Thr	Ile	Asn	Pro	Ala	Gly	Thr	Thr	Asp	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys
	50					55					60				
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
65					70					75					80
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Asp
				85					90					95	

Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
165 170 175

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

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
210 215 220

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
245 250 255

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
260 265 270

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
275 280 285

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
305 310 315 320

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
325 330 335

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
340 345 350

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
385 390 395 400

Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
405 410 415

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
420 425 430

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
435 440 445

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
450 455 460

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn
465 470 475 480

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His
485 490 495

His His His

<210> 152

<211> 499

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 152

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Asp Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys

50

55

60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
165 170 175

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

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
210 215 220

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
245 250 255

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
260 265 270

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
275 280 285

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp

305		310		315		320									
Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp
				325					330					335	
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Ala	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr
			340					345					350		
Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
		355					360					365			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
385					390					395					400
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Ala	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly
				405					410					415	
Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly
			420					425					430		
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
		435					440					445			
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val
	450					455					460				
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn
465					470					475					480
Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	His	His	His
				485					490					495	
His	His	His													

<210> 153
 <211> 499
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 153
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
 20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
 165 170 175

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

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
 195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
 210 215 220

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 245 250 255

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 260 265 270

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
275 280 285

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
305 310 315 320

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
325 330 335

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
340 345 350

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
385 390 395 400

Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
405 410 415

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
420 425 430

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
435 440 445

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
450 455 460

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn
465 470 475 480

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His
485 490 495

His His His

<210> 154
<211> 504
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 154

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

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met 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 Lys
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
180 185 190

Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly 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	
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	
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr						

485

490

495

Val Leu His His His His His His
500

<210> 155

<211> 512

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 155

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

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

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

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160

Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
165 170 175

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu
180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
195 200 205

Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln
225 230 235 240

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser 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 His His His His His His
500 505 510

<210> 156

<211> 499

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<400> 156

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Met Ile Ser Glu Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Asn Pro Ala Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ser Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala

145		150		155		160									
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Arg
				165					170					175	
Asp	Thr	Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg
			180					185					190		
Asp	Asn	Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro
		195					200					205			
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Val
	210					215					220				
Ser	Ser	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
				245					250					255	
Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr
			260					265					270		
Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly
		275					280					285			
Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr
	290					295					300				
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Gln	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp
305					310					315					320
Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp
				325					330					335	
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Ala	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr
			340					345					350		
Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
		355					360					365			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
385					390					395					400
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Ala	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly

405

410

415

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
420 425 430

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
435 440 445

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
450 455 460

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn
465 470 475 480

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His
485 490 495

His His His

<210> 157

<211> 20

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (20)

<223> Эта последовательность может охватывать 1-10 повторяющихся единиц "Gly Ser"

<400> 157

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

Gly Ser Gly Ser
20

<210> 158

<211> 30

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)
<223> Эта последовательность может охватывать 1-10 повторяющихся единиц
"Gly Gly Ser"

<400> 158
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

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

<210> 159
<211> 40
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(40)
<223> Эта последовательность может охватывать 1-10 повторяющихся единиц
"Gly Gly Gly Ser"

<400> 159
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 160
<211> 40
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический
полипептид

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(40)
<223> Эта последовательность может охватывать 1-10 повторяющихся единиц
"Gly Gly Ser Gly"

<400> 160
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

20

25

30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
35 40

<210> 161

<211> 50

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(50)

<223> Эта последовательность может охватывать 1-10 повторяющихся единиц
"Gly Gly Ser Gly Gly"

<400> 161

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

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40 45

Gly Gly
50

<210> 162

<211> 50

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(50)

<223> Эта последовательность может охватывать 1-10 повторяющихся единиц
"Gly Gly Gly Gly Ser"

<400> 162

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

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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ser
50

<210> 163
<211> 20
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 163
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> 164
<211> 15
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 164
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 165
<211> 25
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 165
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 166
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 166

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
1 5 10

<210> 167

<211> 30

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 167

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 168

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 168

Asp Gly Tyr Gly Tyr Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

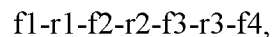
1. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий определяющие комплементарность области CDR1, CDR2 и CDR3, причем

(a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в RFMISX₁YX₂MH (SEQ ID NO: 1);

(b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG (SEQ ID NO: 2); и

(c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в DX₇YGY (SEQ ID NO: 3).

2. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 1, где указанный белок предусматривает нижеследующую формулу:



причем g1 представляет собой SEQ ID NO: 1; g2 представляет собой SEQ ID NO: 2; и g3 представляет собой SEQ ID NO: 3; и причем f₁, f₂, f₃ и f₄ являются каркасными остатками, выбранными таким образом, чтобы указанный белок был по меньшей мере на восемьдесят процентов идентичным аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4.

3. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X₁ представляет собой пролин.

4. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X₂ представляет собой гистидин.

5. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту.

6. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X₄ представляет собой лизин.

7. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X₅ представляет собой глутамин.

8. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X_6 представляет собой тирозин.

9. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 2, где X_7 представляет собой серин.

10. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4.

11. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_1 представляет собой пролин.

12. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_5 представляет собой глутамин.

13. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_6 представляет собой тирозин.

14. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_4 представляет собой лизин и X_7 представляет собой серин.

15. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_4 представляет собой лизин и X_7 представляет собой серин.

16. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_1 представляет собой пролин, X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту и X_7 представляет собой серин.

17. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_5 представляет собой глутамин и X_7 представляет собой серин.

18. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_6 представляет собой тирозин и X_7 представляет собой серин.

19. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_2 представляет собой гистидин и X_7 представляет собой серин.

20. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-9, где X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту и X_7 представляет собой серин.

21. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 11-20, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

22. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 19-21, где связывающий белок также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

23. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-22, где r1 предусматривает SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 7.

24. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-23, где r2 предусматривает SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.

25. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 1-24, где r3 предусматривает SEQ ID NO: 15.

26. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, предусматривающие последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4, причем один или несколько аминокислотных остатков, выбранных из положений аминокислот 31, 33, 50, 55, 56, 62 и 97, заменены.

27. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26, предусматривающий одну или несколько дополнительных замен в положениях аминокислот, отличных от положений 31, 33, 50, 55, 56, 62 и 97.

28. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 31.

29. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 33.

30. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 50.

31. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 55.

32. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 56.

33. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 62.

34. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замену в положении 97.

35. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 55 и 97.

36. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по любому из пп. 28-35, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью

в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

37. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 33 и 97.

38. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 33, 50 и 97.

39. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 37 или п. 38, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4.

40. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 37 или п. 38, где связывающий белок также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

41. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 31, 33, 50 и 97.

42. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 33, 50, 55 и 97.

43. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 33, 50, 56 и 97.

44. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26 или п. 27, предусматривающий замены в положениях аминокислот 33, 50, 62 и 97.

45. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR1 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16.

46. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR2 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17.

47. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR3 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18.

48. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4.

49. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR1 характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью с SEQ ID NO: 16, CDR2 характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью с SEQ ID NO: 17 и CDR3 характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью с SEQ ID NO: 18.

50. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, причем CDR1 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, CDR2 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, и CDR3 предусматривает последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18.

51. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, по любому из пп. 1-50, где указанный связывающий белок связывается с одним или обоими из простатического специфического мембранного антигена человека и простатического специфического мембранного антигена яванского макака.

52. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, по любому из пп. 1-51, где указанный связывающий белок связывается с простатическим

специфическим мембранным антигеном человека и простатическим специфическим мембранным антигеном яванского макака со сравнимыми показателями аффинности связывания.

53. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген, по любому из пп. 1-51, где указанный связывающий белок связывается с простатическим специфическим мембранным антигеном человека с более высокой аффинностью связывания, чем с простатическим специфическим мембранным антигеном яванского макака.

54. Полинуклеотид, кодирующий PSMA-связывающий белок по любому из пп. 1-53.

55. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 54.

56. Клетка-хозяин, трансформированная вектором по п. 55.

57. Фармацевтическая композиция, содержащая (i) PSMA-связывающий белок по любому из пп. 1-53, полинуклеотид по п. 54, вектор по п. 55 или клетку-хозяина по п. 56 и (ii) фармацевтически приемлемый носитель.

58. Способ получения PSMA-связывающего белка по любому из пп. 1-53, причем указанный способ предусматривает культивирование хозяина, трансформированного или трансфицированного вектором, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую белок, связывающий PSMA и альбумин, по любому из пп. 1-53 в условиях, обеспечивающих экспрессию PSMA-связывающего белка, и извлечение и очистку продуцированного белка из культуры.

59. Способ лечения или облегчения течения пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, воспалительного заболевания, иммунологического нарушения, аутоиммунного заболевания, инфекционного заболевания, вирусного заболевания, аллергической реакции, реакции на паразитарную инвазию, реакции «трансплантат против хозяина» или реакции «хозяин против трансплантата», предусматривающий введение PSMA-связывающего белка по любому из пп. 1-53 нуждающемуся в этом субъекту.

60. Способ по п. 59, в котором субъектом является человек.

61. Способ по п. 60, в котором способ дополнительно предусматривает введение средства в комбинации с PSMA-связывающим белком по любому из пп. 1-53.

62. Полиспецифический связывающий белок, предусматривающий PSMA-связывающий белок по любому из п. 1, п. 26 или пп. 45-50.

63. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 1, п. 26 или пп. 45-50.

64. Полиспецифическое антитело, биспецифическое антитело, sdAb, переменный домен тяжелой цепи, пептид или лиганд, предусматривающие PSMA-связывающий белок по п. 1, п. 26 или пп. 45-50.

65. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 1, п. 26 или пп. 45-50, где указанное антитело представляет собой однодоменное антитело.

66. Однодоменное антитело по п. 64, где указанное антитело происходит из переменной области тяжелой цепи IgG.

67. Полиспецифический связывающий белок или антитело, предусматривающие PSMA-связывающий белок по любому из п. 1, п. 26 и пп. 45-50 и CD3-связывающий домен.

68. Способ лечения или облегчения течения пролиферативного заболевания, опухолевого заболевания, воспалительного заболевания, иммунологического нарушения, аутоиммунного заболевания, инфекционного заболевания, вирусного заболевания, аллергической реакции, реакции на паразитарную инвазию, реакции «трансплантат против хозяина» или реакции «хозяин против трансплантата», предусматривающий введение полиспецифического антитела по любому из пп. 64-68 нуждающемуся в этом субъекту.

69. Способ лечения или облегчения течения заболевания предстательной железы, предусматривающий введение полиспецифического антитела по любому из пп. 64-68 нуждающемуся в этом субъекту.

70. Способ лечения или облегчения течения заболевания предстательной железы, предусматривающий введение PSMA-связывающего белка по любому из пп. 1-53 нуждающемуся в этом субъекту.

71. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 1, предусматривающий любую комбинацию нижеследующего:

- (i) причем X₁ представляет собой пролин;
- (ii) причем X₂ представляет собой гистидин;
- (iii) причем X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту;
- (iv) причем X₄ представляет собой лизин;
- (v) причем X₅ представляет собой глутамин;
- (vi) причем X₆ представляет собой тирозин; и
- (vii) причем X₇ представляет собой серин.

72. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 71, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную как SEQ ID NO: 4.

73. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 1, предусматривающий любую комбинацию нижеследующего:

- (i) причем X₁ представляет собой пролин; причем X₅ представляет собой глутамин;
- (ii) причем X₆ представляет собой тирозин; причем X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин;
- (iii) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин;
- (iv) причем X₁ представляет собой пролин, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин;
- (v) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₅ представляет собой глутамин и X₇ представляет собой серин;
- (vi) причем X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту, X₄ представляет собой лизин и X₇ представляет собой серин;
- (vii) причем X₁ представляет собой пролин, X₂ представляет собой гистидин, X₃ представляет собой аспарагиновую кислоту и X₇ представляет собой серин;

(viii) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_5 представляет собой глутамин и X_7 представляет собой серин;

(ix) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту, X_6 представляет собой тирозин и X_7 представляет собой серин; и

(x) причем X_2 представляет собой гистидин, X_3 представляет собой аспарагиновую кислоту и X_7 представляет собой серин.

74. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 73, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

75. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 74, где связывающий белок также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

76. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 26, предусматривающий любую комбинацию нижеследующего:

- (i) замена в положении 31;
- (ii) замена в положении 50;
- (iii) замена в положении 55; замена в положении 56;
- (iv) замена в положении 62;
- (v) замена в положении 97;
- (vi) замены в положениях 55 и 97;
- (vii) замены в положениях 33 и 97;
- (viii) замены в 33, 50 и 97;
- (ix) замены в положениях 31, 33, 50 и 97;
- (x) замены в положениях 33, 50, 55 и 97;
- (xi) замены в положениях 33, 50, 56 и 97; и
- (xiii) замены в положениях 33, 50, 62 и 97.

77. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 76, где связывающий белок характеризуется более высокой аффинностью в отношении

простатического специфического мембранного антигена человека по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

78. Белок, связывающий простатический специфический мембранный антиген по п. 77, где связывающий белок также характеризуется более высокой аффинностью в отношении простатического специфического мембранного антигена яванского макака по сравнению с таковой связывающего белка, который имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4.

79. Способ лечения или облегчения течения рака предстательной железы, причем способ предусматривает введение PSMA-связывающего белка, содержащего определяющие комплементарность области CDR1, CDR2 и CDR3, причем

(a) аминокислотная последовательность CDR1 является такой, как представлено в RFMISX₁YX₂MH (SEQ ID NO: 1);

(b) аминокислотная последовательность CDR2 является такой, как представлено в X₃INPAX₄X₅TDYAEX₆VKG (SEQ ID NO: 2); и

(c) аминокислотная последовательность CDR3 является такой, как представлено в DX₇YGY (SEQ ID NO: 3), нуждающемуся в этом субъекту.

80. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 1, где указанное антитело представляет собой однодоменное антитело.

81. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 80, где указанное однодоменное антитело является частью триспецифического антитела.

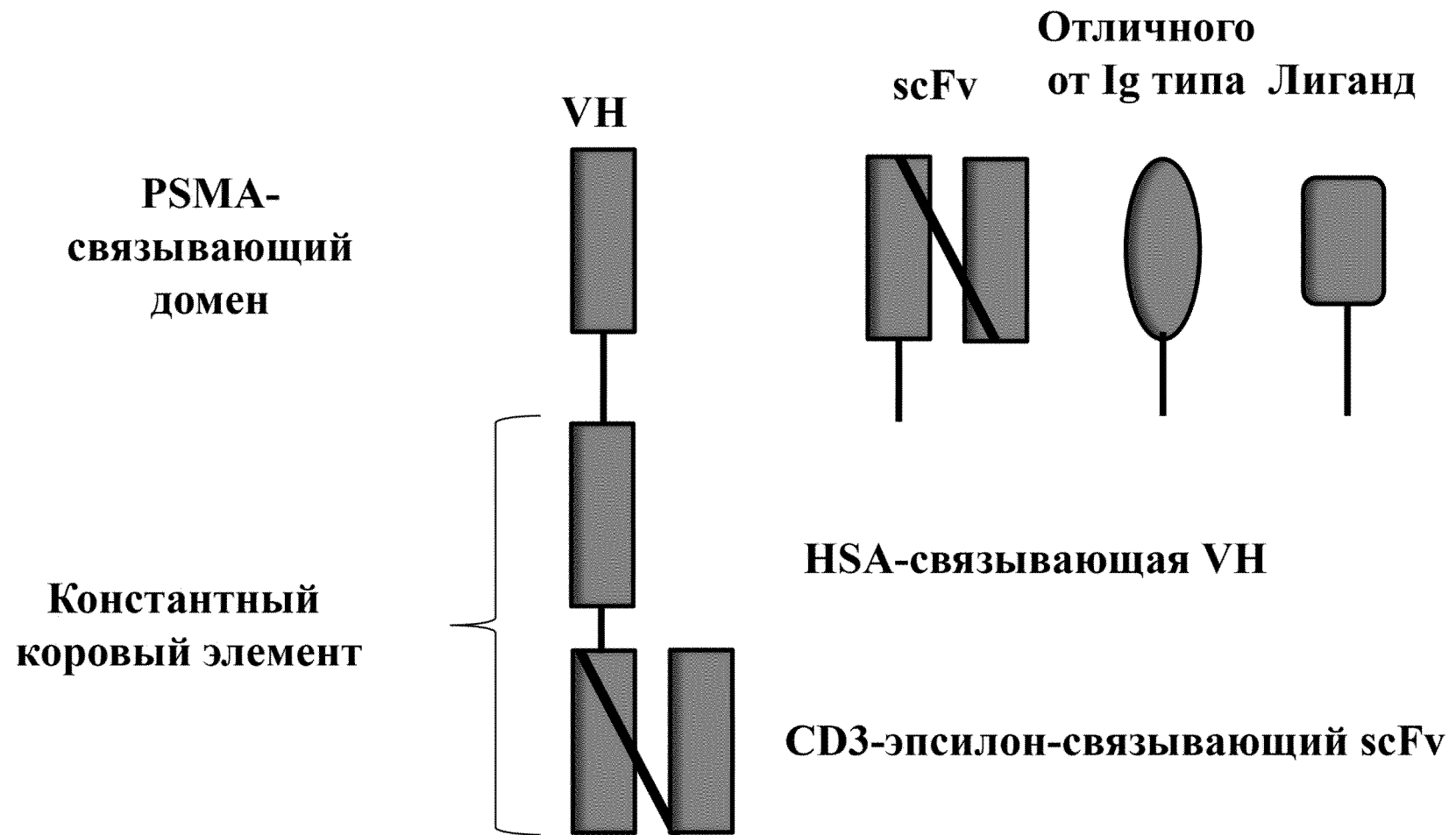
82. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 26, где указанное антитело представляет собой однодоменное антитело.

83. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 82, где указанное однодоменное антитело является частью триспецифического антитела.

84. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 49, где указанное антитело представляет собой однодоменное антитело.

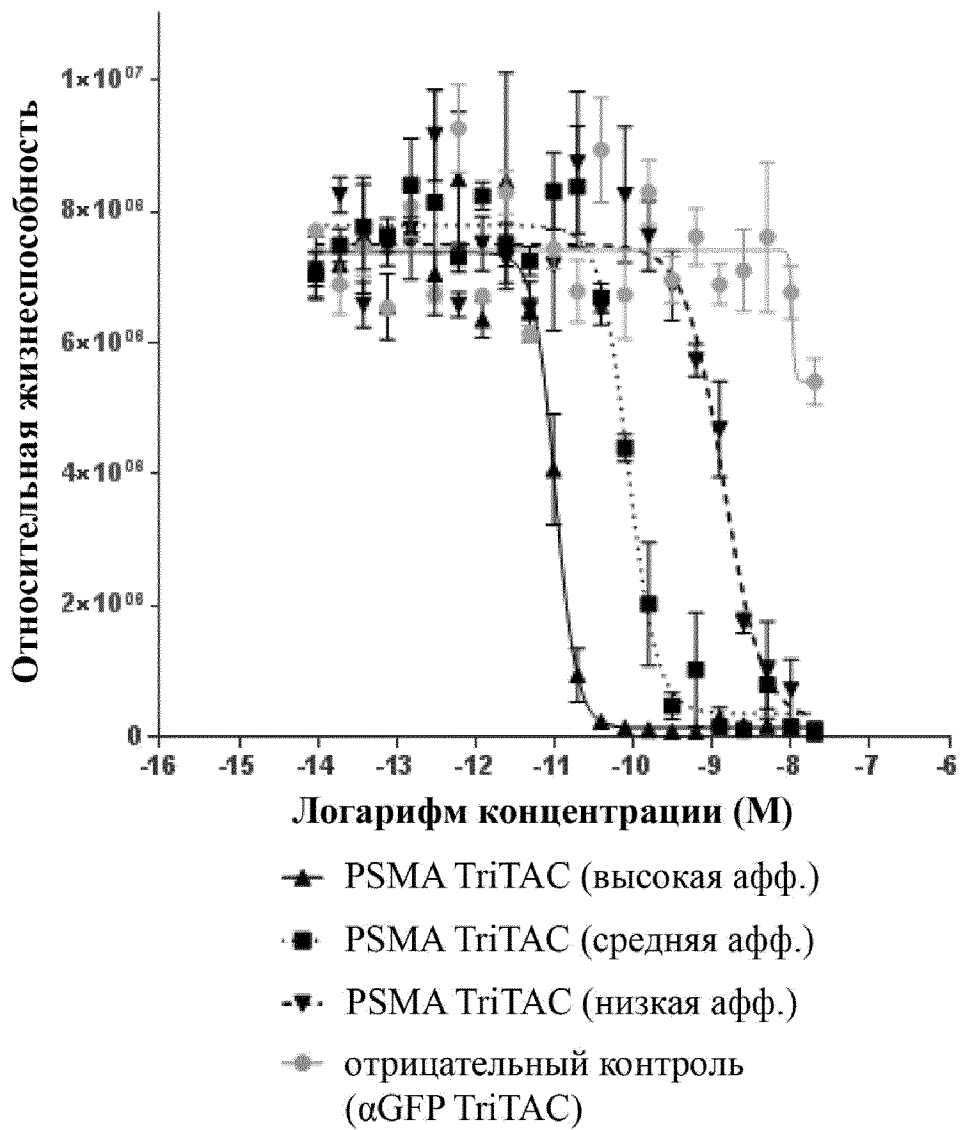
85. Антитело, предусматривающее PSMA-связывающий белок по п. 84, где указанное однодоменное антитело является частью триспецифического антитела.

Фиг. 1



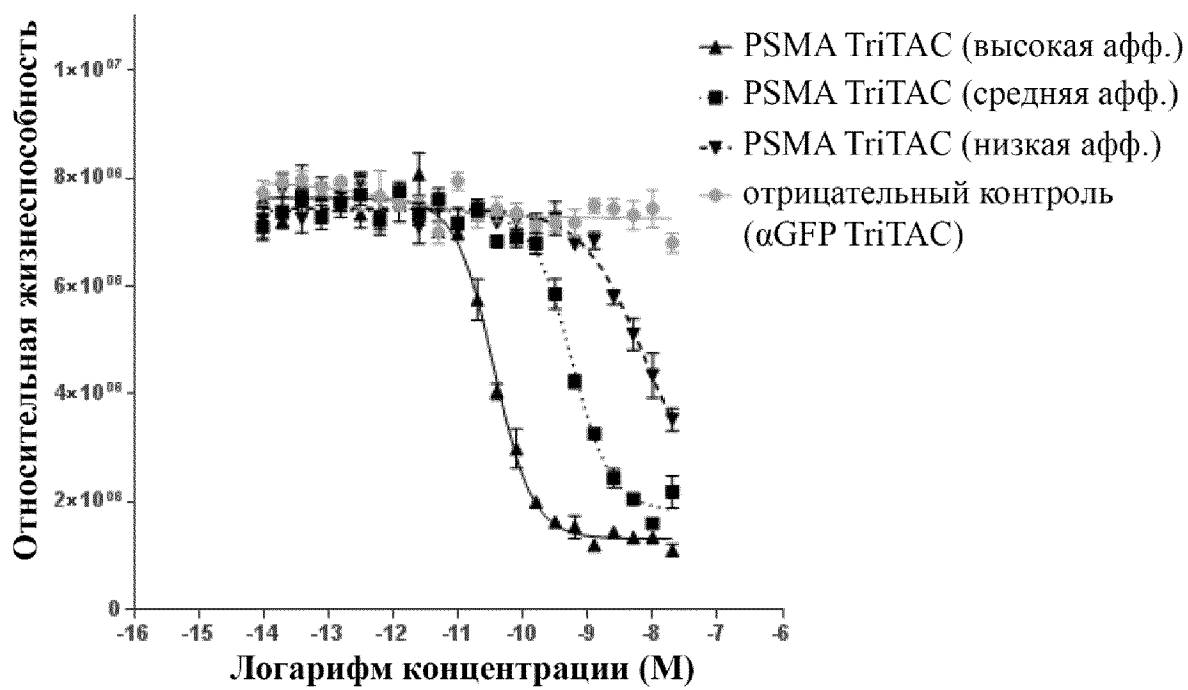
Фиг. 2А

Активность TriTAC в модели
рака предстательной железы LNCaP



Фиг. 2В

Активность TriTAC в модели
рака предстательной железы 22Rv1

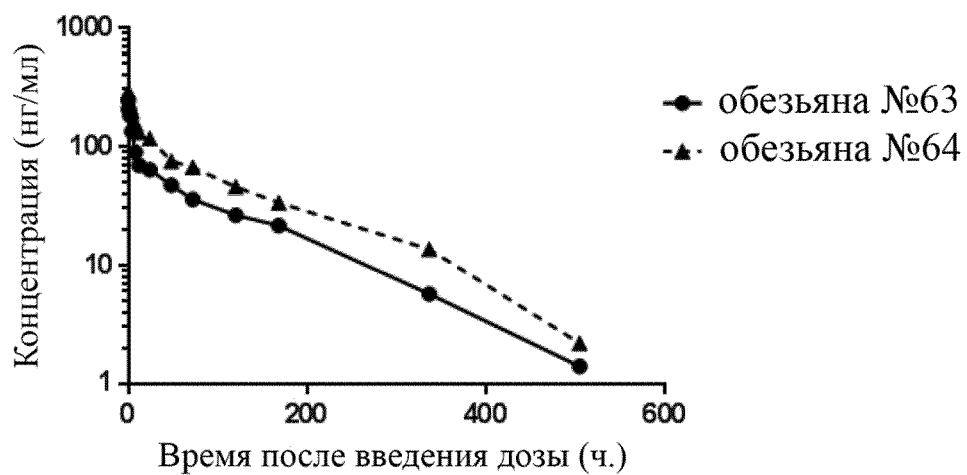


Фиг. 2С

EC50 [пМ]	<u>LNCaP</u>	22Rv1
TriTAC CD3, высокая афф. - C324	10	35
TriTAC CD3, средняя афф. - C339	87	561
TriTAC CD3, низкая афф. - C325	1,389	7,460

Фиг. 3

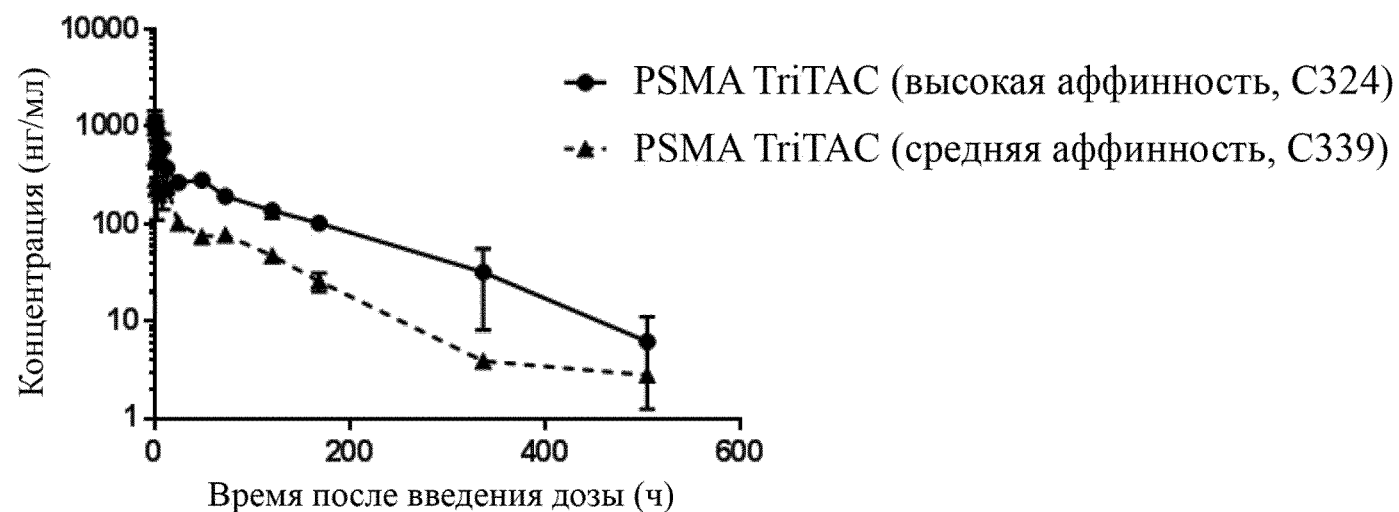
**Уровни PSMA-нацеленной TriTAC C236
в сыворотке крови яванских макаков (доза 0,1 мг/кг)**



Уровень дозы	ID животного	Число точек для λ_z	$t_{1/2}$ в конечной фазе (ч)	C_{max} (нг/мл)	CO (нг/мл)	AUC, 0-последн. (ч×нг/мл)	AUC, 0-inf (ч×нг/мл)	AUC, % экстраполированной (%)	Клиренс (мл/ч/кг)	Vss (л/кг)
0,1 мг/кг	63	6	91,6	245	253	10100	10300	1,8	9,68	1,15
	64	6	93,7	287	298	17500	17800	1,7	5,61	0,71
	Среднее	6	92,6	266	276	13800	14100	1,8	7,64	0,93

Фиг. 4

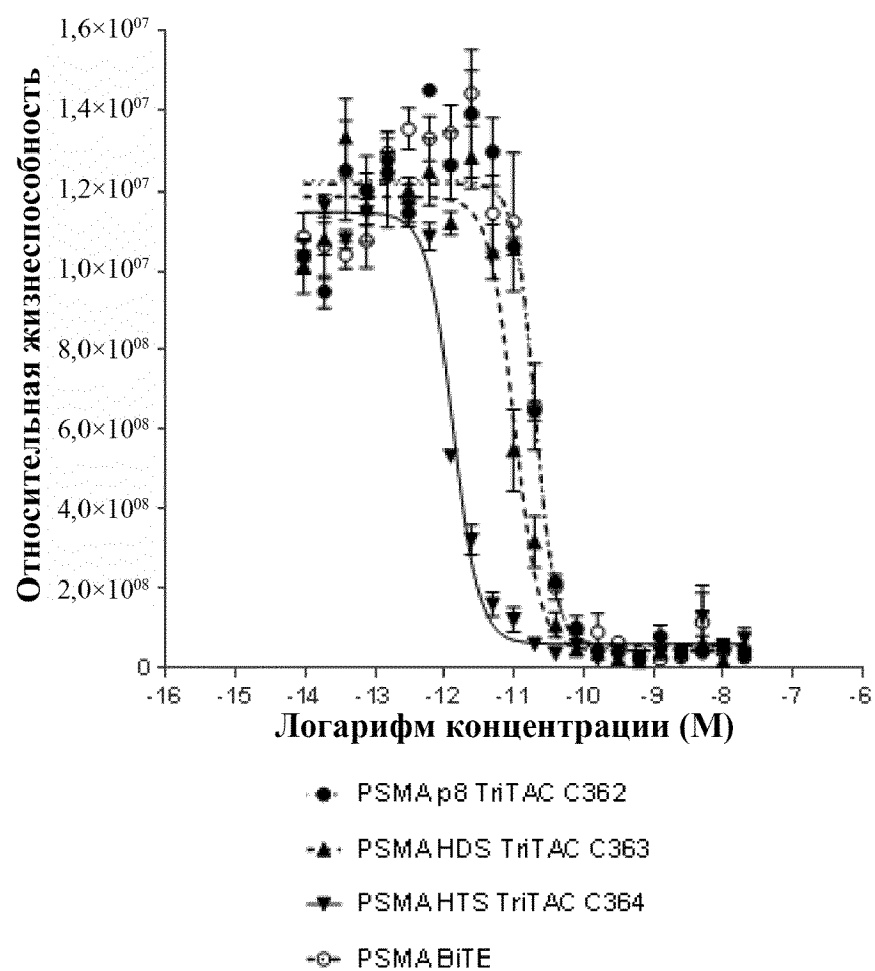
Уровни PSMA-нацеленных TriTAC в сыворотке
крови яванских макаков (доза 0,1 мг/кг)



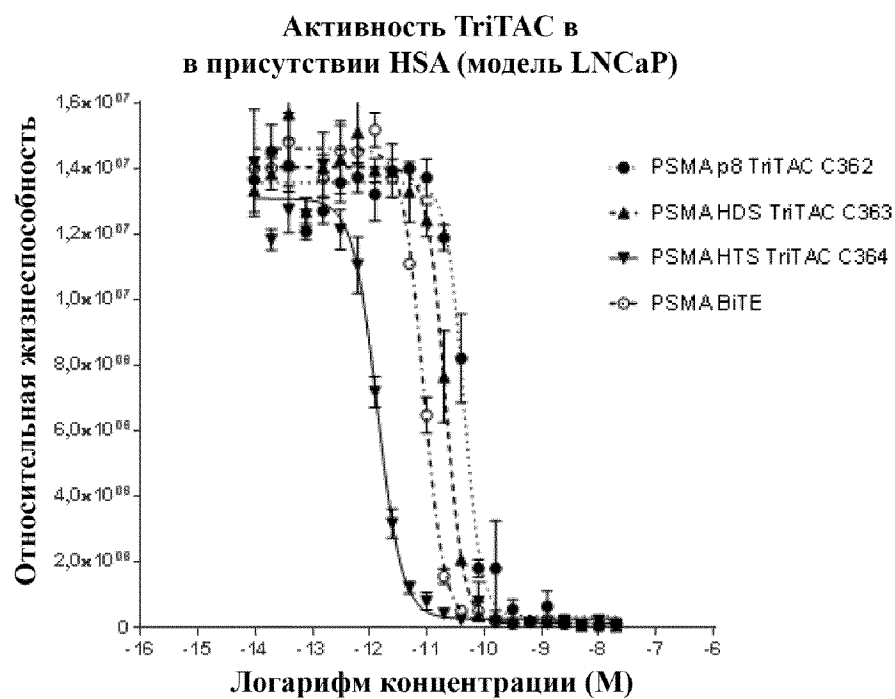
Уровень дозы	ID животного	№ точек для лямбда z	t1/2 в конечной фазе (ч.)	Стах (нг/мл)	СО (нг/мл)	AUC, 0-последн. (ч×нг/мл)	AUC, 0-inf (ч×нг/мл)	% экстраполированной	Клиренс (мл/ч/кг)	Vss (л/кг)
C324 0,1 мг/кг	2389M	5	70,3	1360	1390	47800	48100	0,568	2,08	0,192
	71F	5	101	918	941	56100	57500	2,46	1,74	0,244
	Среднее	5	85,8	1140	1170	51900	52800	1,52	1,91	0,218
C339 0,1 мг/кг	2390M	6	85,3	497	533	17800	18100	1,79	5,53	0,530
	70F	6	86,5	456	523	15600	16000	2,32	6,25	0,621
	Среднее	6	85,9	477	528	16700	17000	2,05	5,89	0,575

Фиг. 5А

Активность TriTAC в
модели LNCaP



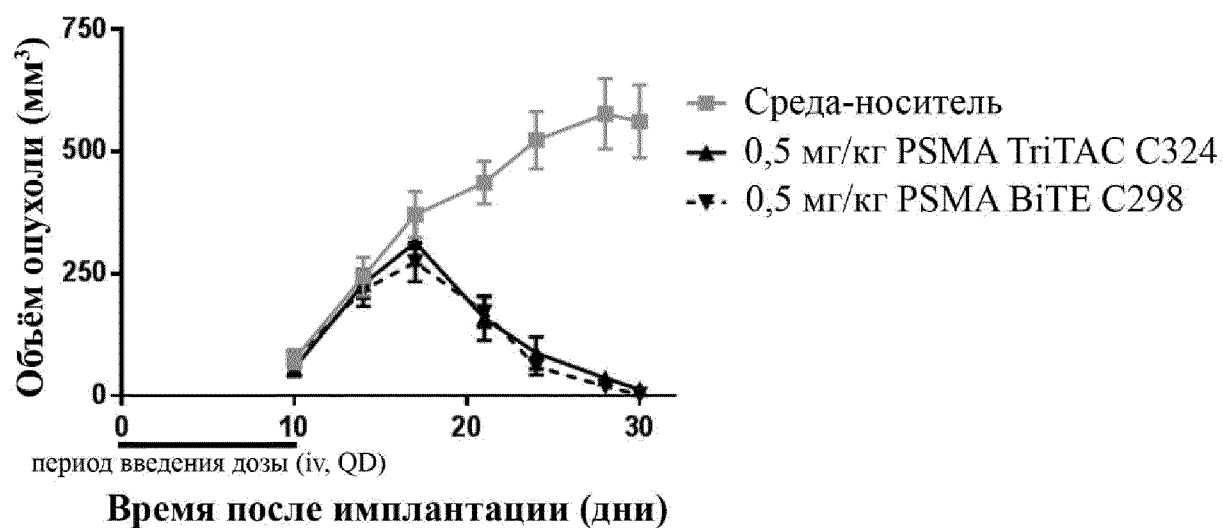
Фиг. 5В



Фиг. 5С

EC50 [пМ]	LNCaP	LNCaP с HSA	сдвиг HSA
PSMA p8 TriTAC C362	20	43	2х
PSMA HDS TriTAC C363	10	21	2х
PSMA HTS TriTAC C364	1,3	1,3	1х
PSMA BiTE	20	9	0,5х

Фиг. 6

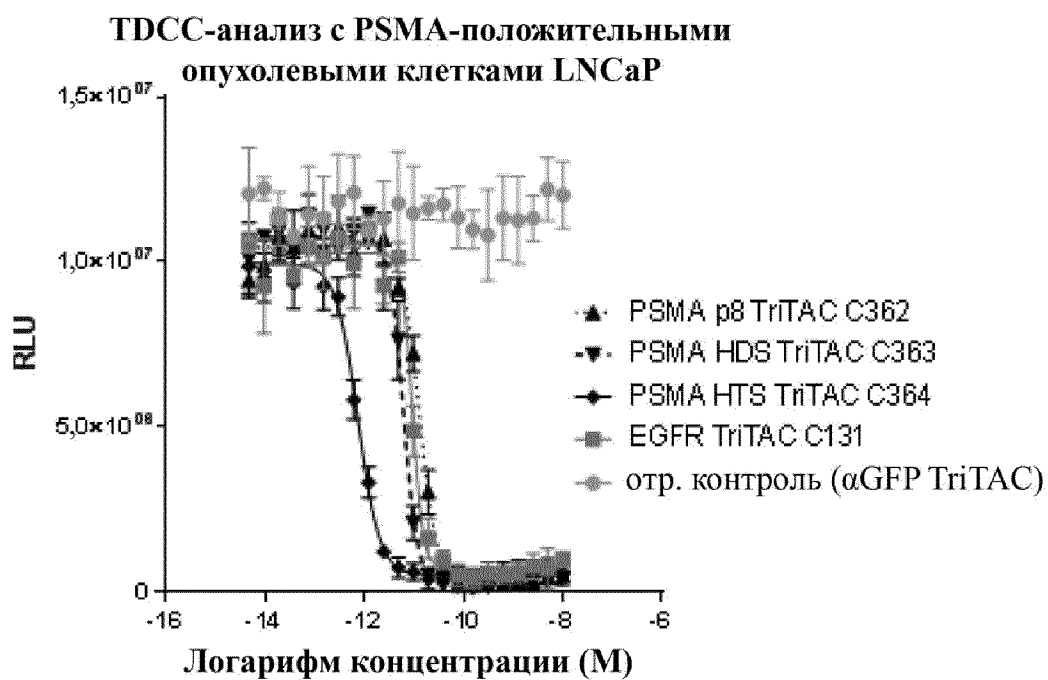


- Исследование с ксенотрансплантатами опухоли предстательной железы человека 22Rv1 у мышей NOD/SCID/гамма, которым инокулировали покоящиеся первичные Т-клетки человека, смешанные с опухолевыми клетками в соотношении 1:1

Фиг. 7А

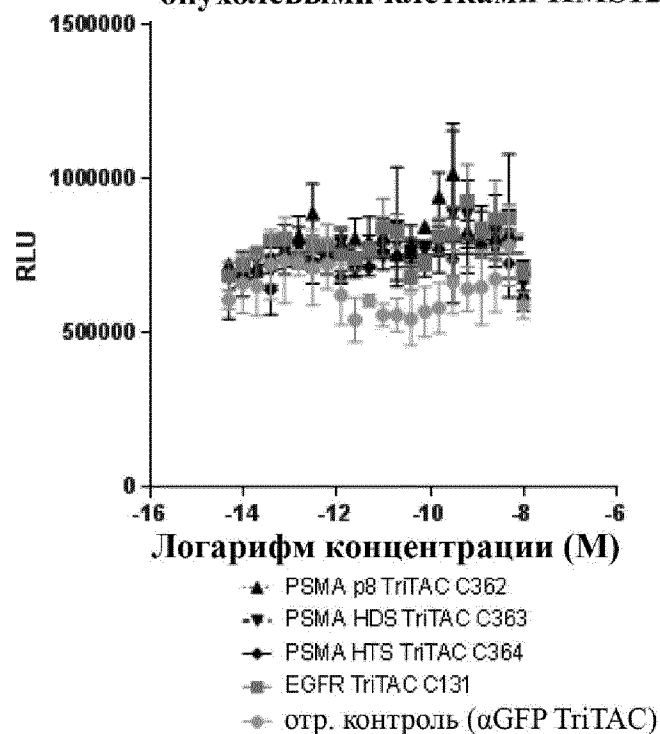
Клеточная линия	Экспрессия EGFR	Экспрессия PSMA
LNCaP	Да	Да
KMS12BM	Нет	Нет
OVCAR8	Да	Нет

Фиг. 7В



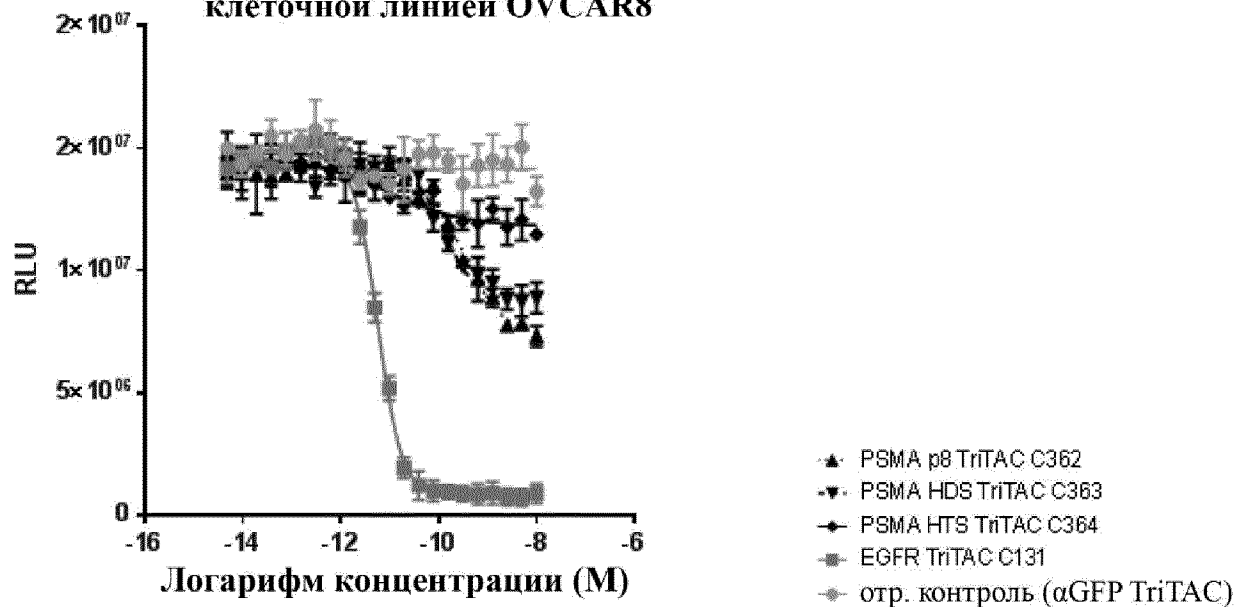
Фиг. 7С

TDCC-анализ с PSMA-отрицательными
опухолевыми клетками KMS12BM

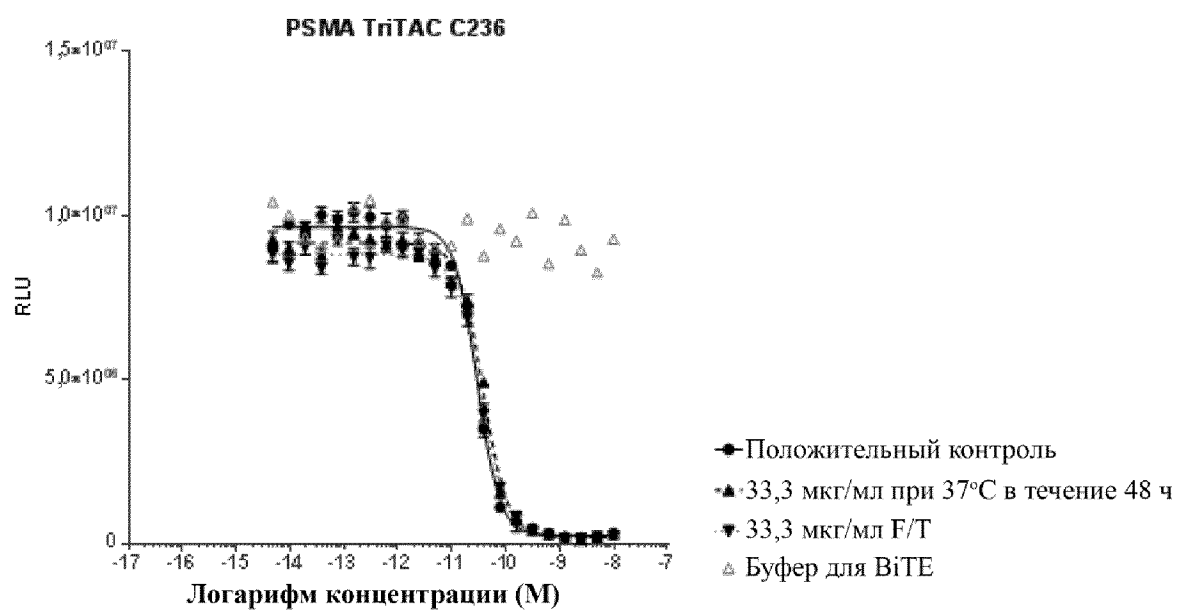


Фиг. 7D

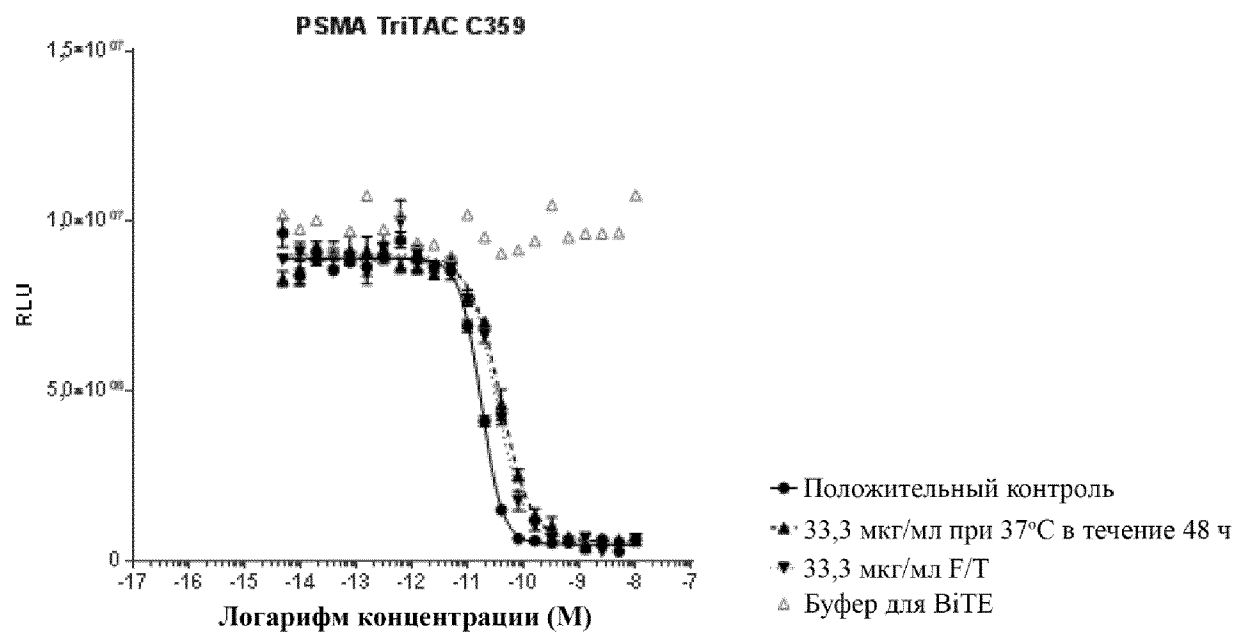
TDCC-анализ с PSMA-отрицательной
клеточной линией OVCAR8



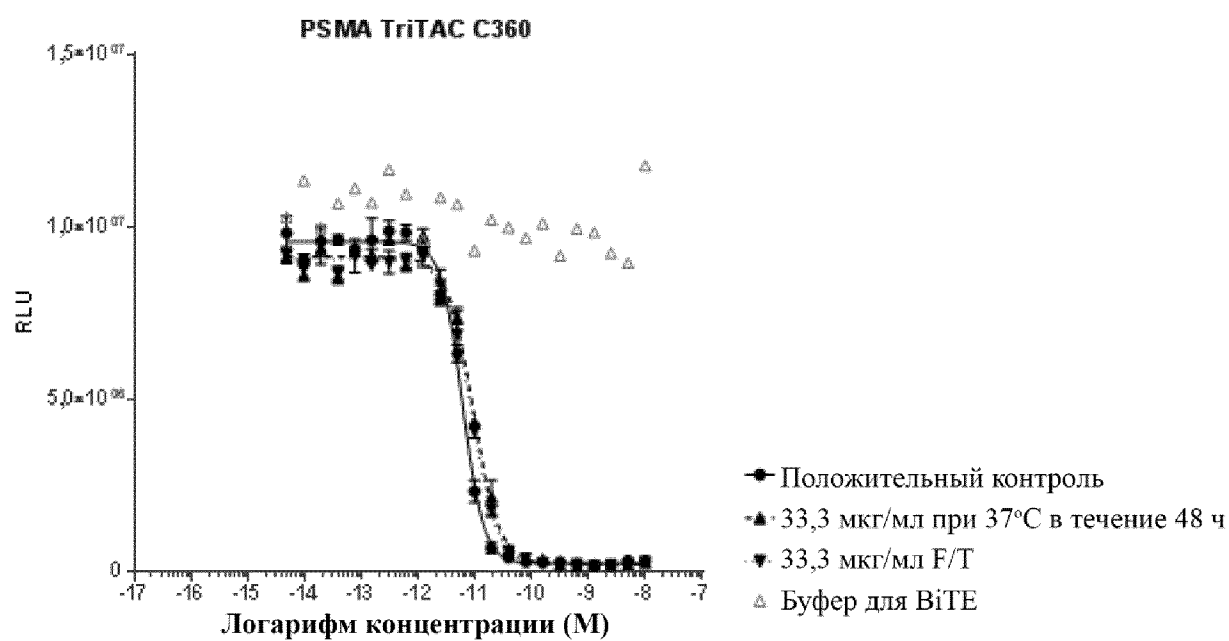
Фиг. 8А



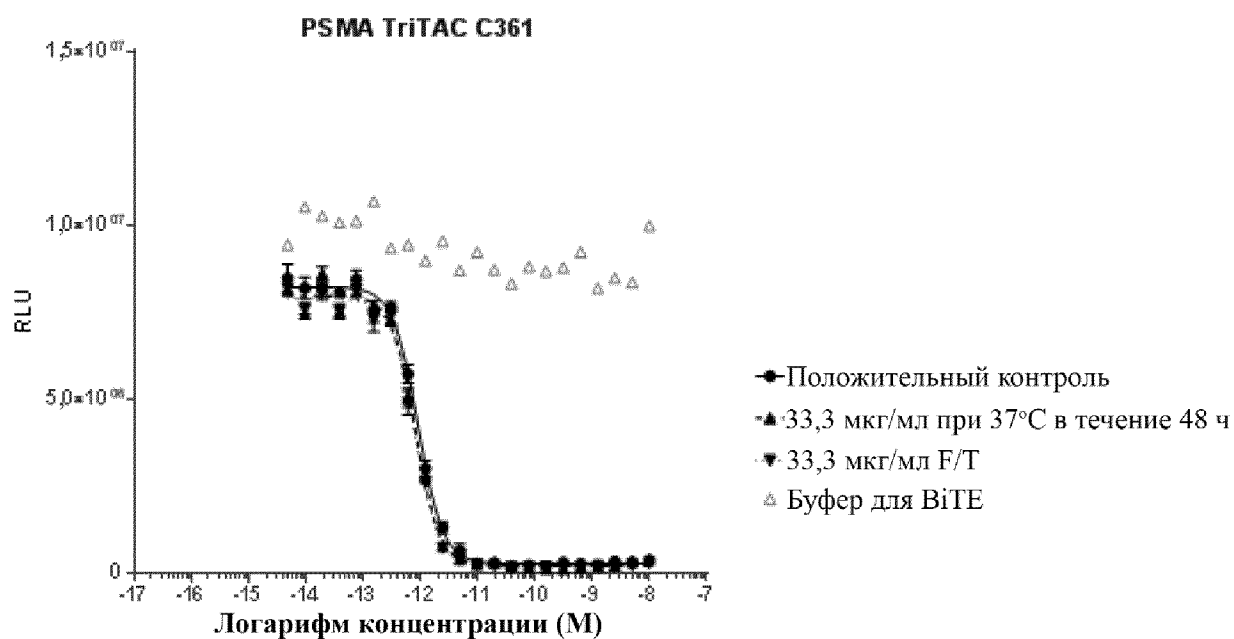
Фиг. 8В



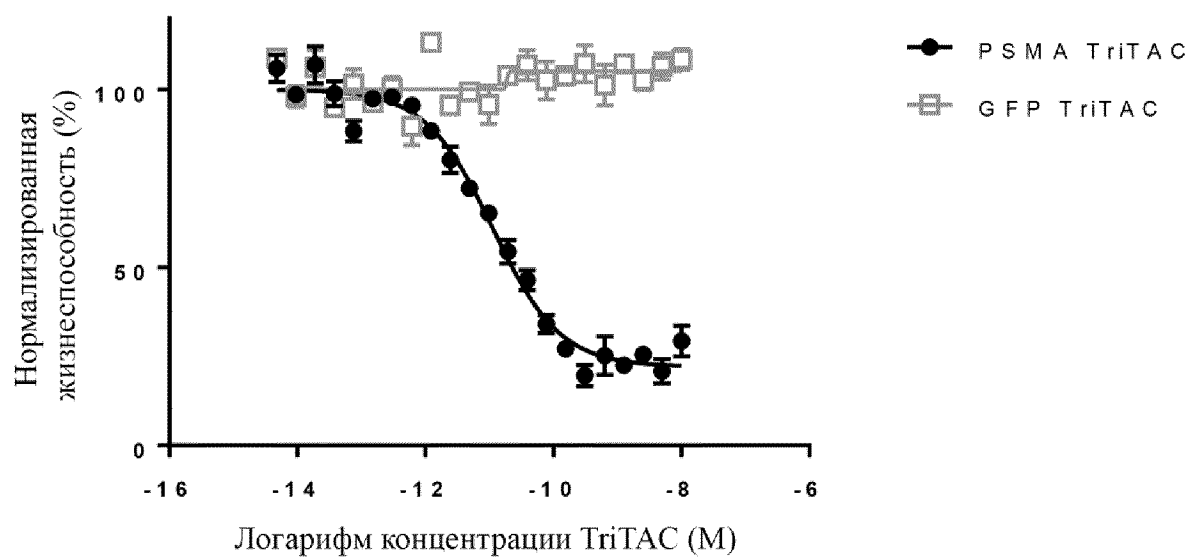
Фиг. 8С



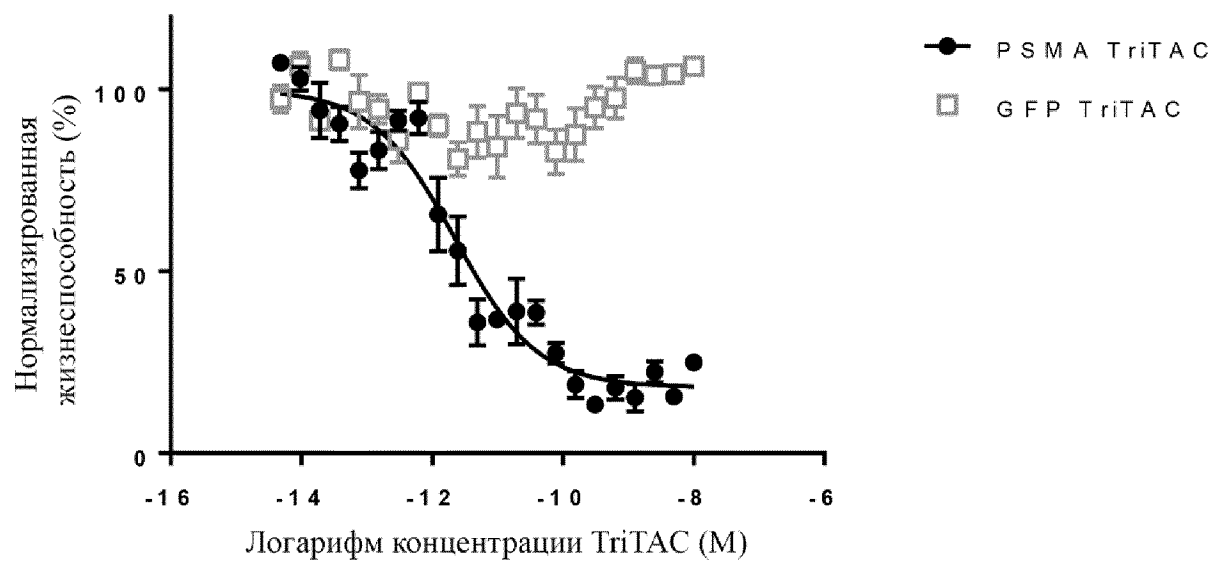
Фиг. 8D



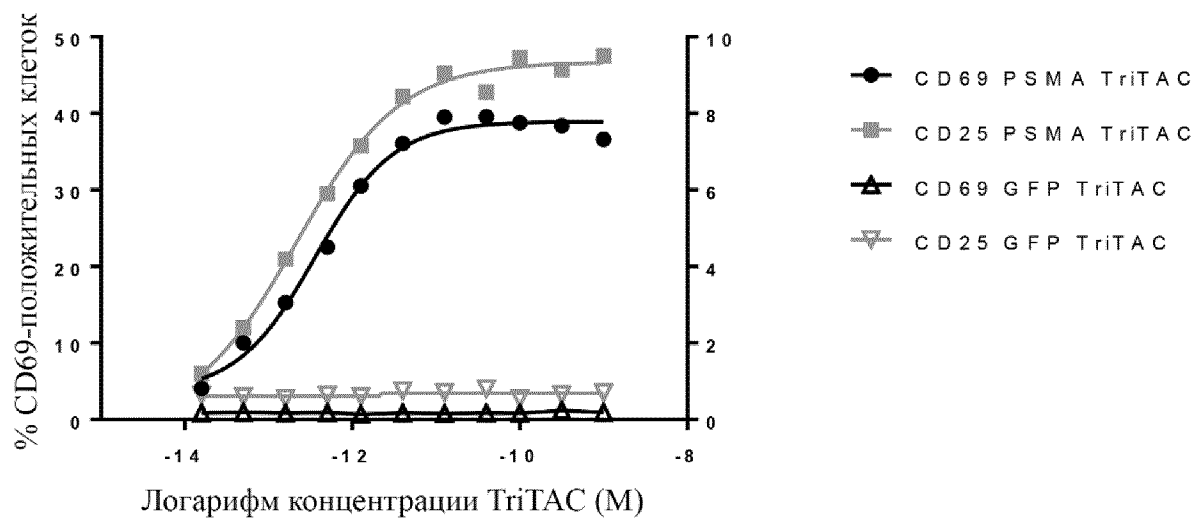
Фиг. 9А



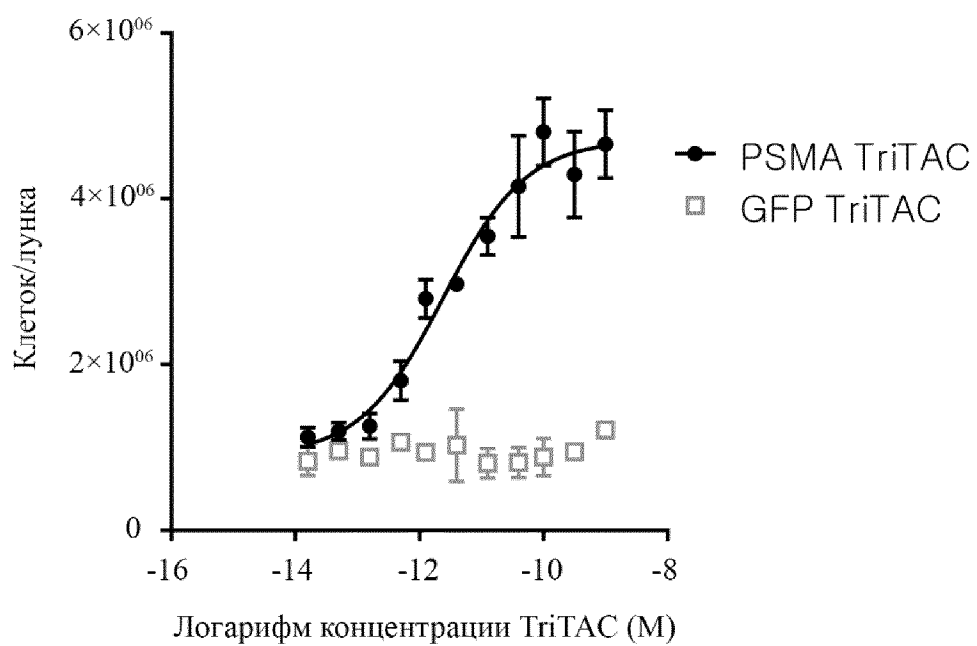
Фиг. 9В



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12