

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991195 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.11.29

(22) Дата подачи заявки
2017.12.20

(51) Int. Cl. *A61K 38/16* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)

(54) МУЛЬТИМЕРНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ, И СПОСОБЫ
ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/438,272; 62/470,774; 62/555,435;
62/582,132

(32) 2016.12.22; 2017.03.13; 2017.09.07;
2017.11.06

(33) US

(86) PCT/US2017/067663

(87) WO 2018/119114 2018.06.28

(71) Заявитель:
КБЮ БИОФАРМА, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Сейдел III Рональд Д., Чапарро
Родольфо (US)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Данное изобретение относится к вариантным иммуномодуляторным полипептидам и гибридным полипептидам, содержащим варианты иммуномодулирующие пептиды. Данное изобретение относится к мультимерным полипептидам, модулирующим Т-клетки, и к композициям, содержащим их, в которых указанные мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки, содержат вариантный иммуномодуляторный полипептид по данному изобретению. Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки, и к клеткам-хозяевам, содержащим указанные нуклеиновые кислоты. Данное раскрытие предоставляет способы модулирования активности Т-клетки; указанные способы включают контактирование Т-клетки с мультимерным полипептидом, модулирующим Т-клетки, по данному изобретению.

A1

201991195

201991195

A1

МУЛЬТИМЕРНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/438272, поданной 22 декабря 2016 г., предварительной заявке на патент США № 62/470774, поданной 13 марта 2017 г., предварительной заявке на патент США № 62/555435, поданной 7 сентября, 2017 и предварительной заявке на патент США № 62/582132, поданной 6 ноября 2017 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПУТЕМ ССЫЛКИ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПРЕДОСТАВЛЕННОГО В ВИДЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА

Приводится Перечень последовательностей в виде текстового файла «CUEB-107WO_SEQ_LISTING_171133_ST25.txt», созданного 14 ноября 2017 года и имеющего размер 153 КБ. Содержимое текстового файла включено в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте.

ВВЕДЕНИЕ

Адаптивный иммунный ответ включает взаимодействие Т-клеточного рецептора (ТКР), присутствующего на поверхности Т-клеток, с небольшим пептидным антигеном, нековалентно представленным на поверхности антигенпрезентирующей клетки (АПК) главным комплексом гистосовместимости. (ГКГС; также называется у человека комплексом человеческого лейкоцитарного антигена (ЧЛА)). Это взаимодействие представляет собой механизм нацеливания иммунной системы и является необходимым молекулярным взаимодействием для модуляции (активации или ингибирования) и эффекторной функции Т-клеток. После эпитоп-специфического нацеливания на целевые клетки нацеливаемые Т-клетки активируются посредством взаимодействия костимулирующих белков, присутствующих на АПК, с костимуляторными белками-партнёрами на Т-клетках. Оба сигнала - связывание эпитопа/ТКР и взаимодействие костимуляторных белков АПК с костимуляторными белками Т-клеток - необходимы для управления специфичностью и активацией или ингибированием Т-клеток. ТКР специфичен для данного эпитопа; однако костимуляторный белок не является эпитоп-специфичным и вместо этого обычно экспрессируется на всех Т-клетках или на больших

подгруппах Т-клеток.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к вариантным иммуномодуляторным полипептидам и гибридным полипептидам, содержащим варианты иммуномодулирующие пептиды. Данное изобретение относится к мультимерным полипептидам, модулирующим Т-клетки, и к композициям, содержащим их, в которых указанные мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки, содержат вариантный иммуномодуляторный полипептид по данному изобретению. Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки, и к клеткам-хозяевам, содержащим указанные нуклеиновые кислоты. Данное раскрытие предоставляет способы модулирования активности Т-клетки; указанные способы включают контактирование Т-клетки с мультимерным полипептидом, модулирующим Т-клетки, по данному изобретению.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1А-1D схематически демонстрируют различные варианты осуществления мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, по данному изобретению. В этих вариантах осуществления дисульфидные связи образуются между полипептидами ГКГС (например, ЧЛА), присутствующими в отдельных полипептидах.

Фиг. 2А-2Q демонстрируют аминокислотную последовательность человеческого ИЛ-2 дикого типа (Фиг. 2А); и аминокислотные последовательности вариантных полипептидов ИЛ-2 (Фиг. 2В-2Q).

Фиг. 3А-3С демонстрируют аминокислотные последовательности альфа-цепи (Фиг. 3А), бета-цепи (Фиг. 3В) и гамма-цепи (Фиг. 3С) рецептора ИЛ-2.

Фиг. 4А-4С демонстрируют аминокислотные последовательности полипептидов Fc иммуноглобулина.

Фиг. 5А-5С демонстрируют аминокислотные последовательности полипептидов тяжелой цепи лейкоцитарного антигена человека (ЧЛА) I класса. Сигнальные последовательности подчеркнуты.

Фиг. 6 демонстрирует множественное выравнивание аминокислотной последовательности предшественников бета-2-микроглобулина ($\beta 2M$) (т. е. включая лидерную последовательность) из *Homo sapiens* (NP_004039. 1; SEQ ID NO: 95), *Pan troglodytes* (NP_001009066. 1; SEQ ID NO : 96), *Macaca mulatta* (NP_001040602. 1; SEQ ID NO: 97), *Bos Taurus* (NP_776318. 1; SEQ ID NO: 98) и *Mus musculus* (NP_033865. 2; SEQ ID

NO: 99). Аминокислоты 1-20 представляют собой сигнальный пептид.

Фиг. 7А-7В демонстрируют продукцию ИЛ-2/synTас («Cue-ИЛ-2-а» и «Cue-ИЛ-2-б») по данному изобретению после транзientной трансфекции. Фиг. 7А демонстрирует неочищенный продукт; Фиг. 7В демонстрирует очищенный продукт.

Фиг. 8А-8В демонстрируют продукцию ИЛ-2/synTас по данному изобретению, в которой ИЛ-2 полипептид присутствует в легкой цепи (полипептидная цепь с легкой цепью (например, $\beta 2M$) молекулы ГКГС класса I) или в тяжелой цепи (полипептидная цепь с тяжелой цепью молекулы ГКГС класса I).

На Фиг. 9 продемонстрирован уровень экспрессии ИЛ-2/syn-Tacs, в котором ИЛ-2 относится к дикому типу (дт) или содержит различные комбинации F42A, D20K, Q126A, E15A, Y45A и H16A.

Фиг. 10 демонстрирует экспрессию ИЛ-2/synTас по данному раскрытию, в которой ИЛ-2 присутствует в одной копии (1X), двух копиях (2X) или трех копиях (3X) в synTас.

Фиг. 11 демонстрирует стимуляцию *in vitro* антиген-специфичных CD8⁺ Т-клеток и неспецифичных CD8⁺ Т-клеток с помощью ИЛ-2/synTас по данному изобретению, причем указанный вариантный ИЛ-2, содержащий замены F42A и H16A, присутствует в synTас в двух копиях.

Фиг. 12 демонстрирует связывание ИЛ-2/synTас со специфическими (вирус лимфоцитарного хориоменингита; LCMV - lymphocytic choriomeningitis virus) или неспецифическими (OT1; распознающими овальбумин) CD8⁺ Т-клетками.

Фиг. 13 демонстрирует опосредованную ИЛ-2/synTас передачу сигналов в антиген-специфичных (LCMV) или неспецифичных (BL6) CD8⁺ Т-клетках.

Фиг. 14А-14F демонстрирует процент клеток позитивных по фосфо-трансдуктанту сигнала и активатору транскрипции 5 (pSTAT5 - phospho-signal transducer and activator of transcription 5) после стимуляции CD8⁺ антиген-специфичных (LCMV) или неспецифичных (BL6) клеток с помощью ИЛ-2/synTас по данному изобретению. при различных концентрациях ИЛ-2/synTас.

Фиг. 15 демонстрирует *in vivo* активность ИЛ-2/synTас по данному раскрытию. На левой панели продемонстрировано кратное изменение количества антиген-специфичных CD8⁺ Т-клеток после введения фосфатно-солевого буфера (ФСБ), рекомбинантного ИЛ-2 (рИЛ-2) или ИЛ-2/synTас по данному изобретению. Правая панель демонстрирует антигенспецифичные и неантигенспецифичные ответы после введения ФСБ, рИЛ-2 или ИЛ-2/synTас по данному изобретению.

Фиг. 16А-16В демонстрируют эффекты увеличения дозы (Фиг. 16А) и пути введения (Фиг. 16В).

Фиг. 17А-17В демонстрируют влияние количества копий ИЛ-2 на эффективность *in vivo* против опухоли.

Фиг. 18 демонстрирует период полувыведения из сыворотки ИЛ-2/synTас по данному изобретению после внутрибрюшинного введения ИЛ-2/synTас в количестве 10 мг/кг.

Фиг. 19 демонстрирует стабильность ИЛ-2/synTас данного раскрытия через 2 часа после внутрибрюшинного введения ИЛ-2/synTас в количестве 10 мг/кг.

Фиг. 20 демонстрирует данные эксклюзионной хроматографии ИЛ-2/synTас по данному изобретению после выдерживания ИЛ-2/synTас при 4°C или 37°C в течение 5 дней.

Фиг. 21 демонстрирует аминокислотную последовательность тяжелой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению с лидерным пептидом, причем тяжелая цепь ИЛ-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменой N297A.

Фиг. 22 демонстрирует аминокислотную последовательность тяжелой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению без лидерного пептида, причем тяжелая цепь ИЛ-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменой N297A.

Фиг. 23А-23В демонстрируют нуклеотидную последовательность (Фиг. 23А), кодирующую тяжелую цепь ИЛ-2/synTас, изображенную на Фиг. 21; и ключ (Фиг. 23В) для последовательности.

Фиг. 24 демонстрирует аминокислотную последовательность тяжелой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению с лидерным пептидом, причем тяжелая цепь ИЛ-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234A и L235A.

Фиг. 25 демонстрирует аминокислотную последовательность тяжелой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению без лидерного пептида, причем тяжелая цепь ИЛ-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234A и L235A.

Фиг. 26А-26В демонстрируют нуклеотидную последовательность (Фиг. 26А), кодирующую тяжелую цепь ИЛ-2/synTас, изображенную на Фиг. 24; и ключ (Фиг. 26В) для последовательности.

Фиг. 27 демонстрирует аминокислотную последовательность тяжелой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению с лидерным пептидом, причем тяжелая цепь ИЛ-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234F, L235E и P331S.

Фиг. 28 демонстрирует аминокислотную последовательность тяжелой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению без лидерного пептида, причем тяжелая цепь ИЛ-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234F, L235E и P331S.

Фиг. 29А-29В демонстрируют нуклеотидную последовательность (Фиг. 29А),

кодирующую тяжелую цепь ИЛ-2/synTас, изображенную на Фиг. 27; и ключ (Фиг. 29В) для последовательности.

Фиг. 30 демонстрирует аминокислотную последовательность легкой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению с лидерным пептидом, причем легкая цепь ИЛ-2/synTас содержит эпитоп Е7 вируса папилломы человека (ВПЧ - HPV - human papilloma virus).

Фиг. 31 демонстрирует аминокислотную последовательность легкой цепи ИЛ-2/synTас по данному изобретению без лидерного пептида, причем легкая цепь ИЛ-2/synTас содержит эпитоп Е7 ВПЧ.

Фиг. 32 демонстрирует нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь ИЛ-2/synTас, изображенную на Фиг. 30.

Фиг. 33А-33D демонстрирует аминокислотные последовательности Fc IgG1 человека дикого типа (Фиг. 33А), Fc IgG1 с заменами L234F, L235E и P331S (Фиг. 33В), Fc IgG1 с заменой N297A (Фиг. 33С) и Fc IgG1 с заменами L234A и L235A (Фиг. 33D).

Фиг. 34А-34С демонстрирует аминокислотную последовательность полипептида β 2-микроглобулина (R12C) (Фиг. 34А), вариантного ИЛ-2 полипептида (H16A; F42A) (Фиг. 34В) и Н-цепи ГКГС класса I A0201 (Y84A); A236C) (Фиг. 34С).

Фиг. 35 демонстрирует опосредованную ИЛ-2/synTас экспансию человеческих ЦМВ(CMV)-специфичных CD8⁺ Т-клеток.

Фиг. 36 демонстрирует данные экспрессии и данные связывания рецептора для synTас с с вариантными ИЛ-2 полипептидами.

Фиг. 37 демонстрирует связывание ИЛ-2/synTас с первичными человеческими Е7 ВПЧ16 (11-20)-специфичными CD8⁺ Т-клетками, как обнаружено с помощью проточной цитометрии.

Фиг. 38 демонстрирует влияние связывания вариантного ИЛ-2/synTас с первичными ВПЧ16 Е7 (11-20)-специфичными CD8⁺ Т-клетками человека на фосфорилирование SLP76.

Фиг. 39 демонстрирует влияние связывания вариантного ИЛ-2/synTас с первичными ВПЧ16 Е7 (11-20)-специфичными Т-клетками человека на продукцию CD25, гранзима В и CD107 α .

Фиг. 40 демонстрирует влияние связывания вариантного ИЛ-2/synTас с первичными ВПЧ16 Е7 (11-20)-специфичными CD8⁺ Т-клетками человека на продукцию IFN- γ .

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Термины «полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота», используемые в данном

документе взаимозаменяемо, относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, либо рибонуклеотидов, либо дезоксирибонуклеотидов. Таким образом, этот термин включает, но не ограничивается ими, одно-, двух- или многоцепочечные ДНК или РНК, геномные ДНК, кДНК, ДНК-РНК-гибриды или полимер, содержащий пуриновые и пиримидиновые основания или другие природные, химически или биохимически модифицированные, неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания.

Термины «пептид», «полипептид» и «белок» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к полимерной форме аминокислот любой длины, которая может включать кодированные и некодированные аминокислоты, химически или биохимически модифицированные или дериватизированные аминокислоты и полипептиды, имеющие модифицированные пептидные основные цепи.

Полинуклеотид или полипептид имеет определенный процент «идентичности последовательности» с другим полинуклеотидом или полипептидом, что означает, что при выравнивании этот процент оснований или аминокислот одинаков и в одинаковом относительном положении при сравнении двух последовательностей. Идентичность последовательности может быть определена различными способами. Чтобы определить идентичность последовательности, последовательности могут быть выровнены с использованием различных удобных способов и компьютерных программ (например, BLAST, T-COFFEE, MUSCLE, MAFFT и т. д.), доступных во всемирной сети на сайтах, включая ncbi.nlm.nih.gov/BLAST, ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/, ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/, mafft.cbrc.jp/alignment/software/. См., например, Altschul et al. (1990), J. Mol. Biol. 215:403-10.

Термин «консервативная аминокислотная замена» относится к взаимозаменяемости в белках аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи. Например, группа аминокислот, имеющих алифатические боковые цепи, состоит из глицина, аланина, валина, лейцина и изолейцина; группа аминокислот, имеющих алифатически-гидроксильные боковые цепи, состоит из серина и треонина; группа аминокислот, имеющих амидсодержащие боковые цепи, состоит из аспарагина и глутамина; группа аминокислот, имеющих ароматические боковые цепи, состоит из фенилаланина, тирозина и триптофана; группа аминокислот, имеющих основные боковые цепи, состоит из лизина, аргинина и гистидина; группа аминокислот, имеющих кислотные боковые цепи, состоит из глутамата и аспартата; и группа аминокислот, имеющих серосодержащие боковые цепи, состоит из цистеина и метионина. Примерами консервативных групп аминокислотных замен являются: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин-глицин и аспарагин-глутамин.

Используемый в данном документе термин «связывание» (например, в отношении связывания мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, согласно данному изобретению, с полипептидом (например, Т-клеточным рецептором на Т-клетке) относится к нековалентному взаимодействию между ними. Связывающие взаимодействия обычно характеризуются константой диссоциации (K_D) менее чем 10^{-6} М, менее чем 10^{-7} М, менее чем 10^{-8} М, менее чем 10^{-9} М, менее чем 10^{-10} М, менее чем 10^{-11} М, менее чем 10^{-12} М, менее чем 10^{-13} М, менее чем 10^{-14} М или менее чем 10^{-15} М. «Аффинность» относится к силе связывания, повышенной аффинности связывания коррелирующей с более низкой K_D .

Используемый в данном документе термин «иммунологический синапс» или «иммунный синапс» обычно относится к естественному интерфейсу между двумя взаимодействующими иммунными клетками адаптивного иммунного ответа, включая, например, интерфейс между антиген-презентирующей клеткой (АПК) или целевой клеткой и эффекторной клеткой, например лимфоцитом, эффекторной Т-клеткой, клеткой-естественным килером и тому подобному. Иммунологический синапс между АПК и Т-клеткой обычно инициируется взаимодействием Т-клеточного антигенного рецептора и молекул главного комплекса гистосовместимости, например, как описано в Bromley et al., *Annu Rev Immunol.* 2001; 19: 375-96; раскрытие которых полностью включено в данное описание посредством ссылки.

«Т-клетка» включает все типы иммунных клеток, экспрессирующих CD3, включая Т-хелперные клетки ($CD4^+$ клетки), цитотоксические Т-клетки ($CD8^+$ клетки), регуляторные Т-клетки (Treg) и NK-Т клетки.

«Костимуляторный полипептид», в том смысле, в котором он используется в данном документе, включает полипептид на антигенпрезентирующей клетке (АПК) (например, на дендритной клетке, В-клетке и т. п.), который специфически связывает когнатный костимуляторный полипептид на Т-клетке, обеспечивая тем самым сигнал, который, в дополнение к первичному сигналу, обеспечиваемому, например, связыванием комплекса ТКР/CD3 с полипептидом главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащего пептид, опосредует ответ Т-клетки, включая, но не ограничиваясь ими, пролиферацию, активацию, дифференцировку и тому подобное. Костимуляторный лиганд может включать, но не ограничивается ими, CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, лиганд Fas (FasL), индуцибельный костимуляторный лиганд (ICOS-L), молекулу межклеточной адгезии (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, ЧЛА-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептор лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, агонист или антитело, которое связывает рецептор лиганда Toll, и лиганд, который специфически

связывается с В7-Н3. Костимуляторный лиганд также включает, среди прочего, антитело, которое специфически связывается с костимуляторной молекулой, присутствующей в Т-клетке, такой как, но не ограничиваясь ими, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, связанный с функцией лимфоцитов (LFA-1 - lymphocyte function-associated antigen-1), CD2, LIGHT, NKG2C, В7-Н3 и лиганд, который специфически связывается с CD83.

«Модуляторный домен» («MOD»), мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, по данному изобретению включает костимуляторный полипептид, например ИЛ-2 полипептид, такой как вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению.

«Гетерологичный», как используется в данном документе, означает нуклеотид или полипептид, который не присутствует в нативной нуклеиновой кислоте или белке, соответственно.

«Рекомбинантный», как используется в данном документе, означает, что конкретная нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) является продуктом различных комбинаций стадий клонирования, рестрикции, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или лигирования, приводящих к конструкции, имеющей структурную кодирующую или некодирующую последовательность, отличающуюся от эндогенных нуклеиновых кислот, присутствующих в природных системах. Последовательности ДНК, кодирующие полипептиды, могут быть собраны из фрагментов кДНК или из ряда синтетических олигонуклеотидов, чтобы получить синтетическую нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессироваться из рекомбинантной транскрипционной единицы, содержащейся в клетке или в бесклеточной системе транскрипции и трансляции.

Термины «рекомбинантный вектор экспрессии» или «конструкция ДНК» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения молекулы ДНК, содержащей вектор и одну вставку. Рекомбинантные векторы экспрессии обычно генерируют с целью экспрессии и/или размножения вставки (вставок) или для конструирования других рекомбинантных нуклеотидных последовательностей. Вставка(и) может или не может быть функционально связана с промоторной последовательностью и может или не может быть функционально связана с регуляторными последовательностями ДНК.

Клетка была «генетически модифицирована» или «трансформирована» или «трансфицирована» экзогенной ДНК, например вектором рекомбинантной экспрессии, когда такая ДНК была введена внутрь клетки. Присутствие экзогенной ДНК приводит к постоянным или временным генетическим изменениям. Трансформирующая ДНК может или не может быть интегрирована (ковалентно связана) в геном клетки. Например, в

прокариотах, дрожжах и клетках млекопитающих трансформирующая ДНК может поддерживаться на эписомальном элементе, таком как плаزمид. Что касается эукариотических клеток, то стабильно трансформированная клетка представляет собой клетку, в которой трансформирующая ДНК интегрируется в хромосому, так что она наследуется дочерними клетками посредством репликации хромосомы.

Используемая в данном документе «клетка-хозяин» обозначает эукариотическую клетку *in vivo* или *in vitro* или клетку многоклеточного организма (например, клеточную линию), культивируемую как одноклеточный объект, причем эукариотические клетки могут использоваться или использовались в качестве реципиентов для нуклеиновой кислоты (например, вектора экспрессии, который содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую мультимерный полипептид по данному изобретению), и включают потомство исходной клетки, которая была генетически модифицирована нуклеиновой кислотой. Понятно, что потомство отдельной клетки необязательно может быть полностью идентичным по морфологии или по геномному или полному комплементу ДНК исходному родителю вследствие естественной, случайной или преднамеренной мутации. «Рекомбинантная клетка-хозяин» (также называемая «генетически модифицированная клетка-хозяин») представляет собой клетку-хозяин, в которую была введена гетерологичная нуклеиновая кислота, например, вектор экспрессии. Например, генетически модифицированная эукариотическая клетка-хозяин генетически модифицируется путем введения в подходящую эукариотическую клетку-хозяин гетерологичной нуклеиновой кислоты, например, экзогенной нуклеиновой кислоты, которая является чужеродной для эукариотической клетки-хозяина, или рекомбинантной нуклеиновой кислоты, которая обычно не находится в эукариотической клетке-хозяине.

Термины «лечение», «лечить», «обработка», «обрабатывать» и тому подобное используются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть профилактическим с точки зрения полного или частичного предотвращения заболевания или его симптома и/или может быть терапевтическим с точки зрения частичного или полного излечения от заболевания и/или неблагоприятного эффекта, связанного с заболеванием. Используемое в данном описании «лечение»/«обработка» охватывает любое лечение/обработку заболевания или симптома у млекопитающего и включает: (a) предотвращение возникновения заболевания или симптома у субъекта, который может быть предрасположен к приобретению заболевания или симптома, но еще не был диагностирован как имеющий их; (b) подавление заболевания или симптома, то есть

прекращение их развития; или (с) облегчение заболевания, то есть вызывание регрессии заболевания. Терапевтический агент можно вводить до, во время или после начала заболевания или травмы. Лечение продолжающегося заболевания, при котором лечение стабилизирует или уменьшает нежелательные клинические симптомы пациента, представляет особый интерес. Такое лечение желательно проводить до наступления полной потери функции в пораженных тканях. Терапию субъекту желательно вводить во время симптоматической стадии заболевания, а в некоторых случаях после симптоматической стадии заболевания.

Термины «индивидуум», «субъект», «хозяин» и «пациент» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к любому субъекту-млекопитающему, для которого требуется диагностика, лечение или терапия. Млекопитающие включают, например, людей, приматов, не являющихся людьми, грызунов (например, крыс; мышей), лагоморфов (например, кроликов), копытных (например, коров, овец, свиней, лошадей, коз и тому подобное) и т.д.

Прежде чем данное изобретение будет дополнительно описано, следует понимать, что данное изобретение не ограничивается конкретными описанными вариантами осуществления, поскольку они, конечно, могут варьироваться. Также следует понимать, что используемая в данном документе терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, поскольку объем по данному изобретению будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Когда предоставляется диапазон значений, подразумевается, что каждое промежуточное значение, с точностью до десятой доли нижнего предела, если контекст явно не предписывает иное, между верхним и нижним пределом этого диапазона и любым другим установленным или промежуточным значением в указанном диапазоне находится в пределах изобретения. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут независимо включаться в меньшие диапазоны и также охватываются изобретением, с учетом любого специально исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает одно или оба из пределов, диапазоны, исключаящие один или оба из этих включенных пределов, также включены в данное изобретение.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, также могут использоваться при практическом применении или испытании по данному изобретению,

предпочтительные способы и материалы описаны в данном случае. Все публикации, упомянутые в данном документе, включены в него посредством ссылки для раскрытия и описания способов и/или материалов, в связи с которыми цитируются указанные публикации.

Следует отметить, что используемые в данном документе и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают множественное число, если контекст явно не предписывает иное. Таким образом, например, ссылка на «вариантный ИЛ-2 полипептид» включает множество таких полипептидов, а ссылка на «полипептид тяжелой цепи ЧЛА класса I» включает ссылку на один или несколько полипептидов тяжелой цепи ЧЛА класса I и их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники и так далее. Кроме того, следует отметить, что формула изобретения может быть составлена таким образом, чтобы исключить любой необязательный элемент. Как таковое, это утверждение предназначено для использования в качестве предшествующей основы для использования такой исключительной терминологии, как «единственно», «только» и т. п., в связи с перечислением элементов претензии (пунктов формулы) или использованием «отрицательного» ограничения.

Понятно, что определенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут быть предоставлены в комбинации в одном варианте осуществления. И наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, также могут быть предусмотрены отдельно или в любой подходящей подкомбинации. Все комбинации вариантов осуществления, относящихся к данному изобретению, конкретно охватываются данным изобретением и раскрываются в данном документе так же, как если бы каждая комбинация была раскрыта индивидуально и в явном виде. Кроме того, все подкомбинации различных вариантов осуществления и их элементов также конкретно охватываются данным изобретением и раскрываются в данном документе так же, как если бы каждое такое сочетание было индивидуально и в явном виде раскрыто в данном документе.

Публикации, обсуждаемые в данном документе, предназначены исключительно для их раскрытия до даты подачи данной заявки. Ничто в данном документе не должно быть истолковано как признание того, что данное изобретение не имеет права предшествовать такой публикации в силу предшествующего изобретения. Кроме того, предоставленные даты публикации могут отличаться от фактических дат публикации, которые, возможно, потребуется подтвердить независимо.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к вариантным иммуномодуляторным полипептидам и гибридным полипептидам, содержащим варианты иммуномодулирующие пептиды. Данное изобретение относится к мультимерным полипептидам, модулирующим Т-клетки, и к композициям, содержащим их, в которых указанные мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки, содержат вариантный иммуномодуляторный полипептид по данному изобретению. Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки, и к клеткам-хозяевам, содержащим указанные нуклеиновые кислоты. Данное раскрытие предоставляет способы модулирования активности Т-клетки; указанные способы включают контактирование Т-клетки с мультимерным полипептидом, модулирующим Т-клетки, по данному изобретению.

В вариантах осуществления, описанных в данном документе, мультимерный полипептид функционирует как суррогатный АПК и имитирует адаптивный иммунный ответ. Мультимерный полипептид делает это путем взаимодействия ТКР, присутствующего на поверхности Т-клетки, с эпитоп-презентирующим пептидом в комплексе, с ГКГС, присутствующем в указанном мультимерном полипептиде. Это взаимодействие обеспечивает мультимерный полипептид способностью достигать эпитоп-специфического нацеливания на клетки. В вариантах осуществления, описанных в данном документе, мультимерный полипептид также обладает, по меньшей мере, одним иммуномодуляторным белком (также называемым в данном документе «модуляторным доменом» или «MOD»), который взаимодействует с костимуляторным белком-партнёром (также называемым в данном документе «иммуномодуляторным полипептидом», «когнатным иммуномодуляторным полипептидом» или «когнатным костимуляторным белком» и тому подобное) на Т-клетке. Оба сигнала - связывание эпитопа/ГКГС с ТКР и связывание иммуномодуляторного полипептида с когнатным костимулирующим полипептидом - затем управляют как желаемой специфичностью Т-клеток, так и ингибированием или активацией/пролиферацией. Как дополнительно описано в данном документе, по меньшей мере, один иммуномодуляторный белок может представлять собой вариант встречающегося в природе иммуномодуляторного белка (например, встречающегося в природе ИЛ-2), при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку на Т-клетке (например, ИЛ-2Р) по сравнению с аффинностью природного иммуномодуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку.

Мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, по данному изобретению

также упоминается как «полипептид synTас». Полипептид synTас по данному изобретению содержит вариантный модуляторный домен, причем указанный вариантный модуляторный домен проявляет пониженную аффинность связывания с иммуномодуляторным полипептидом (когнатным костимулирующим полипептидом, например, когнатным костимулирующим полипептидом на поверхности Т-клетки), по сравнению со сродством модулирующего домена дикого типа к иммуномодулирующему полипептиду. Полипептид synTас по данному изобретению может модулировать активность целевой Т-клетки. Полипептид synTас по данному изобретению обеспечивает повышенную специфичность к целевым клеткам.

ВАРИАНТНЫЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ПОЛИПЕПТИДЫ

Данное раскрытие обеспечивает модулирующие вариантные ИЛ-2 полипептиды. Аминокислотная последовательность дикого типа человеческого ИЛ-2 продемонстрирована на Фиг. 2А. Аминокислотная последовательность человеческого ИЛ-2 полипептида дикого типа может быть следующей: APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1).

ИЛ-2 дикого типа связывается с рецептором ИЛ-2 (ИЛ-2Р) на поверхности клетки. Рецептор ИЛ-2 представляет собой в некоторых случаях гетеротримерный полипептид, содержащий альфа-цепь (ИЛ-2Р α ; также называемую CD25), бета-цепь (ИЛ-2Р β ; также называемую CD122) и гамма-цепь (ИЛ-2Р γ , также называемую CD132). Аминокислотные последовательности человеческого ИЛ-2Р α , ИЛ-2Р β и ИЛ-2Р γ продемонстрированы на Фиг. 3А-3С.

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению проявляет пониженную аффинность связывания с ИЛ-2Р по сравнению с аффинностью связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, с ИЛ-2Р. Например, в некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению связывает ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, с полипептидом ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности, изображенные на Фиг. 3А-3С. Например, в некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению связывает ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5%, по меньшей мере, на 10%, по меньшей

мере, на 15%, по меньшей мере, на 20%, по меньшей мере, на 25%, по меньшей мере, на 30%, по меньшей мере, на 35%, по меньшей мере, на 40%, по меньшей мере, на 45%, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 55%, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 65%, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащий альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В таких случаях аффинность связывания определяют с использованием процедуры, описанной ниже.

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению имеет аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению имеет аффинность связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности, изображенные на Фиг. 3А-3С), которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В таких случаях аффинность связывания определяют с использованием процедуры, описанной ниже.

Вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению может иметь одну аминокислотную замену относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению имеет от 2 до 10 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению имеет 2 аминокислотные замены относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2

[illegible]

Вариант ИЛ-2 полипептида по данному изобретению может иметь длину от 120 до 140 аминокислот, например, от 120 до 125 аминокислот, от 125 до 130 аминокислот, от 130 до 135 аминокислот, или от 135 аминокислот до 140 аминокислот. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению имеет длину 133 аминокислоты.

Замена E15

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, при этом аминокислота 15 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2D, при этом аминокислота 15 представляет собой Ile. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с заменой E15 имеют аффинность

связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие вариантные ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 25% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75%, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащий альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замена H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых

полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Gln. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 является Met. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Phe. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 является Ser. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 является Thr. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Trp. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с заменой Н16 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от

около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие вариантные ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 25% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75%, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замена D20

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2С, при этом аминокислота 20 является аминокислотой, отличной от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2С, при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит

[illegible]

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2С, при этом аминокислота 20 представляет собой Gln. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2С, при этом аминокислота 20 представляет собой His. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с D20-заменой имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 25% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75%, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащий альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замена F42

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере,

98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с F42-заменой имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 нМ до

около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие вариантные ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 25% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замена Y45

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45

представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Ile. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с заменой Y45 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 до около 1 мкМ, от около 1 до около 5 мкМ, от около 5 до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, по меньшей мере, 5%, 10%, по меньшей мере, 15%, по меньшей мере, 20%, по меньшей мере, 25%, по меньшей мере, 30%, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 45%, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем

аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающем альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замена Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению включает аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на

Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Ile. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с заменой Q126 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2H, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys,

Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, на 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, на 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды F42/H16

имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие вариантные ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 25% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, 45%, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42 и D20

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность

[illegible]

полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Asn. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Gln. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Lys. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Arg. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой His. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды с F42/D20-заменами имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере,

на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и E15

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 15 представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, при этом аминокислота 15 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 15 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2J, при этом

[illegible]

полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды F42/D20/E15 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около От 100 до 150 нМ, от около 150 до около 200 нМ, от около 200 до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по

меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20

[illegible]

имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды F42/D20/H16 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около От 100 до 150 нМ, от около 150 до около 200 нМ, от около 200 до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, 45%,

по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 65%, по меньшей мере, на 70%, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 является аминокислотой, отличной от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 является Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 126 является аминокислотой, отличной от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2

[illegible]

меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды F42/D20/Q126 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около От 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на

55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и Y45

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по

[illegible]

последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды F42/D20/Y45 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 до 150 нМ, от около 150 до около 200 нМ, от около 200 до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на

70% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А, с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly,

[illegible]

98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Asn, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше варианты ИЛ-2 полипептиды F42/D20/Y45/H16 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15

мкМ до около 20 мкМ, от от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие вариантные ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45 и Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2О, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере,

[illegible]

Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях описанные выше вариантные ИЛ-2 полипептиды F42/D20/Y45/Q126 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие вариантные ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, 70% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45, H16 и Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту,

отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, аминокислота 45 представляет собой Gly,

[illegible]

аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант замены F42/D20/Y45/H16/Q126 ИЛ-2 полипептида, описанные выше, имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около От 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на 25% меньше, по меньшей мере, на 30% меньше, по меньшей мере, на 35%

меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, 45%, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% На 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, Q126 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота

[illegible]

содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Lys, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Arg, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантные ИЛ-2 полипептиды F42/Q126/H16 имеют аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет около от 100 нМ. до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около От 1 до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 до около 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около От 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях такие варианты ИЛ-2 полипептиды связывают ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая, по меньшей мере, на 5% меньше, на 10% меньше, по меньшей мере, на 15% меньше, по меньшей мере, на 20% меньше, по меньшей мере, на

30% меньше, по меньшей мере, на 35% меньше, по меньшей мере, на 40% меньше, по меньшей мере, на 45% меньше, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, включающего альфа-, бета- и гамма-цепи, содержащие аминокислотные последовательности (зрелые формы), изображенные на Фиг. 3А-3С). В некоторых случаях такой вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

СЛИТЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ

Данное раскрытие обеспечивает слитые полипептиды ИЛ-2. Слитый полипептид по данному изобретению содержит: а) вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; и б) гетерологичный партнер по слиянию. В некоторых случаях гетерологичный партнер по слиянию слит с N-концом вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях гетерологичный партнер по слиянию слит с С-концом вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях слитый ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит первый гетерологичный партнер по слиянию, слитый с N-концом вариантного ИЛ-2 полипептида, и второй гетерологичный партнер по слиянию, слитый с С-концом вариантного ИЛ-2 полипептида.

Общая длина слитого ИЛ-2 полипептида по данному изобретению может варьироваться от 135 аминокислот до 2000 аминокислот. Например, слитый ИЛ-2 полипептид по данному изобретению может быть в диапазоне от 135 аминокислот до 150 аминокислот, от 150 аминокислот до 175 аминокислот, от 175 аминокислот до 200 аминокислот, от 200 аминокислот до 225 аминокислот от 225 до 250 аминокислот, от 250 до 275 аминокислот, от 275 до 300 аминокислот, от 300 до 350 аминокислот, от 350 аминокислот, от 350 до 400 аминокислот от 400 аминокислот, от 400 до 450 аминокислот, от 450 до 500 аминокислот, от 500 до 600 аминокислот, от 600 до 700 аминокислот, от 700 до 800 аминокислот от 800 до 900 аминокислот, от 900 до 1000 аминокислот, от 1000 до 1250 аминокислот, от 1250 до 1500 аминокислот, от 1500 до 1750 аминокислот или от 1750 аминокислот до 2000 аминокислот.

Подходящие партнеры по слиянию включают, но не ограничиваются ими, трансмембранный домен; Fc-область антитела; антигенсвязывающая область антитела;

цитокин (кроме ИЛ-2); иммуномодуляторный домен; внутриклеточный сигнальный домен; и тому подобное.

МУЛЬТИМЕРНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ

Данное раскрытие обеспечивает мультимерные (например, гетеродимерные, гетеротримерные) полипептиды. Указанные мультимерные полипептиды являются полипептидами, модулирующими Т-клетки, а также упоминаются в данном документе как «мультимерные полипептиды, модулирующие Т-клетки» или «synTас» (от «иммунологический синапс для активации Т-клеток»). Фиг. 1А-1D демонстрирует схематические изображения мультимерных полипептидов, модулирующих Т-клетки, по данному изобретению. Мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, по данному изобретению также обозначается как «ИЛ-2/synTас», «полипептид synTас» или «мультимерный полипептид».

В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению содержит ИЛ-2 полипептид дикого типа. В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению содержит одну копию ИЛ-2 полипептида дикого типа. В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению содержит две копии ИЛ-2 полипептида дикого типа. В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению содержит три копии ИЛ-2 полипептида дикого типа. В некоторых случаях ИЛ-2 полипептид дикого типа содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2А.

В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению содержит вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению. Как отмечено выше, вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, проявляет пониженную аффинность связывания с ИЛ-2Р по сравнению с аффинностью связывания ИЛ-2 дикого типа с ИЛ-2Р. Мультимерный полипептид по данному изобретению, который содержит вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению, также проявляет пониженную аффинность связывания с ИЛ-2Р по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, содержащим ИЛ-2 дикого типа с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С).

В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению проявляет пониженную аффинность связывания с ИЛ-2Р по сравнению с аффинностью связывания

ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р. Например, в некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению связывает ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая меньше, чем аффинность связывания контрольного полипептида synTас, содержащего ИЛ-2 полипептид, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р, который содержит альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С. Например, в некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению связывает ИЛ-2Р с аффинностью связывания, которая составляет, по меньшей мере, 10%, по меньшей мере, 15%, по меньшей мере, 20%, по меньшей мере, 25%, по меньшей мере, 30%, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 45%, по меньшей мере, на 50% меньше, по меньшей мере, на 55% меньше, по меньшей мере, на 60% меньше, по меньшей мере, на 65% меньше, по меньшей мере, на 70% меньше, по меньшей мере, на 75% меньше, по меньшей мере, на 80% меньше, по меньшей мере, на 85% меньше, по меньшей мере, на 90% меньше, по меньшей мере, на 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания контрольного полипептида synTас, содержащего ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С).

В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению имеет аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от 100 нМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению имеет аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет около от 100 нМ до 500 нМ. Например, в некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С), которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 450 нМ или от около 450 до около 500 нМ. В некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С.) от около 500 нМ до 1 мкМ. Например, в некоторых случаях полипептид synTас по данному изобретению обладает аффинностью

связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С), которая составляет от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ или от около 900 нМ до около 1 мкМ. В некоторых случаях полипептид *synTas* по данному изобретению обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С.) от около 1 до 10 мкМ. Например, в некоторых случаях полипептид *synTas* по данному изобретению обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С), которая составляет от около 1 мкМ до 2 мкМ, от около 2 мкМ до около 3 мкМ, от около 3 мкМ до около 4 мкМ, от около 4 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 6 мкМ, от около 6 до около 7 мкМ, от около 7 до около 8 мкМ, от около 8 до около 9 мкМ или от около 9 до около 10 мкМ. В некоторых случаях полипептид *synTas* по данному изобретению обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С) от около 10 до 100 мкМ. Например, в некоторых случаях полипептид *synTas* по данному изобретению обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р (например, ИЛ-2Р, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на Фиг. 3А-3С), которая составляет от около 10 до около 20 мкМ, от около 20 до около 30 мкМ, от около 30 до около 40 мкМ, от около 40 до около 50 мкМ, от около 50 до около 60 мкМ, от около 60 до около 70 мкМ, от около 70 до около 80 мкМ, от около 80 до около 90 мкМ или от около 90 до около 100 мкМ.

Определение аффинности связывания

Аффинность связывания между иммуномодуляторным полипептидом и его когнатным коиммуномодуляторным полипептидом может быть определена с помощью биослойной интерферометрии (BLI - bio-layer interferometry) с использованием очищенного иммуномодуляторного полипептида и очищенного когнатного коиммуномодуляторного полипептида. Аффинность связывания между *synTas* по данному изобретению и его когнатным коиммуномодуляторным полипептидом также может быть определена с помощью BLI с использованием очищенного *synTas* и когнатного коиммуномодуляторного полипептида. Способы BLI хорошо известны

специалистам в данной области. См, например, Lad et al. (2015) *J. Biomol. Screen.* 20(4):498-507; и Shah and Duncan (2014) *J. Vis. Exp.* 18:e51383. специфичные и относительные аффинности связывания, описанные в этом раскрытии, между иммуномодуляторным полипептидом и его когнатным коиммуномодуляторным полипептидом или между synTas и его родственным иммуномодуляторным полипептидом могут быть определены с использованием следующих процедур.

Чтобы определить аффинность связывания между synTas по данному изобретению и его когнатным коиммуномодуляторным полипептидом, анализ BLI может быть выполнен с использованием прибора Octet RED 96 (Pal FortéBio) или аналогичного прибора, как указано ниже. Для определения аффинности связывания, мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, (например, synTas по данному изобретению или контрольного, мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, (причем контрольный мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, содержит иммуномодуляторный полипептид дикого типа)), мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, иммобилизуют на нерастворимом носителе («биосенсор»). Иммобилизованный, мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, является «мишенью/целью». Иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации захватывающего антитела на нерастворимом носителе, причем захватывающее антитело иммобилизует, мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки. Например, иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации антител против Fc (например, против Fc IgG человека) на нерастворимом носителе, причем иммобилизованные антитела против Fc связываются и иммобилизуют, мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, (причем мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, содержит полипептид IgFc). Коиммуномодуляторный полипептид наносят в нескольких различных концентрациях на иммобилизованный, мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, и регистрируют реакцию прибора. Анализы проводят в жидкой среде, содержащей 25 mM HEPES, pH 6,8, 5% поли(этиленгликоля) 6000, 50 mM KCl, 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,02% неионогенного детергента Твин 20. Связывание коиммуномодуляторного полипептида с иммобилизованным Т-клеточным модулирующим мультимерным полипептидом проводят при 30°C. В качестве положительного контроля аффинности связывания можно использовать моноклональное антитело против ГКГС класса I. Например, можно использовать моноклональное антитело против ЧЛА класса I W6/32 (Американская коллекция типовых культур, № HB-95; Parham et al. (1979) *J. Immunol.* 123: 342) с K_D 7 нМ. Стандартная кривая может быть получена с использованием серийных разведений

моноклонального антитела против ГКГС класса I. Коиммуномодуляторный полипептид, или мАт против ГКГС класса I, является «аналитом». BLI анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей: i) от иммобилизованного полипептида («мишень/цель»); и ii) внутреннего эталонного слоя. Изменение количества молекул («аналит»; например, коиммуномодуляторный полипептид; антитело против ЧЛА), связанных с наконечником биосенсора, вызывает изменение интерференционной картины; этот сдвиг в интерференционной картине может быть измерен в реальном времени. Двумя кинетическими терминами, которые описывают аффинность взаимодействия мишени/цели и аналита, являются константа ассоциации (k_a) и константа диссоциации (k_d). Отношение этих двух терминов (k_d/k_a) дает константу аффинности K_D .

Как отмечено выше, определение связывающей аффинности между иммуномодуляторным полипептидом (например, ИЛ-2 или вариантом ИЛ-2) и его когнатным коиммуномодуляторным полипептидом (например, ИЛ-2Р) также может быть определено с помощью BLI. Анализ аналогичен описанному выше для мультимерного полипептида synTas. Анализ BLI может быть выполнен с использованием прибора Octet RED 96 (Pal FortéBio) или аналогичного прибора следующим образом. Компонентный иммуномодуляторный полипептид synTas по данному изобретению (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); и контрольный иммуномодуляторный полипептид (причем контрольный иммуномодуляторный полипептид содержит иммуномодуляторный полипептид дикого типа, например, ИЛ-2 дикого типа)) иммобилизуют на нерастворимом носителе («биосенсор»). Иммуномодуляторный полипептид является «мишенью/целью». Иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации захватывающего антитела на нерастворимом носителе, причем захватывающее антитело иммобилизует иммуномодуляторный полипептид. Например, если мишень/цель сливают с иммуноаффинной меткой (например, FLAG, Fc IgG человека), иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации с помощью соответствующего антитела к иммуноаффинной метке (например, против Fc IgG человека) на нерастворимом носителе, причем иммобилизованные антитела связываются и иммобилизуют иммуномодуляторный полипептид (причем иммуномодуляторный полипептид содержит Fc-полипептид Ig). Коиммуномодуляторный полипептид (или полипептиды) наносят в нескольких различных концентрациях на иммобилизованный иммуномодуляторный полипептид и регистрируют реакцию прибора. Альтернативно, коиммуномодуляторный полипептид (или полипептиды) иммобилизуют в биосенсоре (например, для гетеротримера рецептора ИЛ-2, в качестве мономерной

субъединицы, гетеродимерного подкомплекса или полного гетеротримера) и иммуномодуляторный полипептид применяют в нескольких различных концентрациях к иммобилизованному коиммуномодуляторному полипептиду(ам), и реакция прибора регистрируется. Анализы проводят в жидкой среде, содержащей 25 мМ HEPES, pH 6,8, 5% поли (этиленгликоль) 6000, 50 мМ KCl, 0,1% бычий сывороточный альбумин и 0,02% неионогенного детергента Твин 20. Связывание коиммуномодуляторного полипептида с иммобилизованным иммуномодуляторным полипептидом проводят при 30°C. В качестве положительного контроля аффинности связывания можно использовать моноклональное антитело против ГКГС класса I. Например, можно использовать моноклональное антитело против ЧЛА класса I W6/32 (Американская коллекция типовых культур, № HB-95; Parham et al. (1979) *J. Immunol.* 123: 342) с K_D 7 нМ. Стандартная кривая может быть получена с использованием серийных разведений моноклонального антитела против ГКГС класса I. Коиммуномодуляторный полипептид, или мАт против ГКГС класса I, является «аналитом». BLI анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей: i) от иммобилизованного полипептида («мишень/цель»); и ii) внутреннего эталонного слоя. Изменение количества молекул («аналит»; например, коиммуномодуляторный полипептид; антитело против ЧЛА), связанных с наконечником биосенсора, вызывает изменение интерференционной картины; этот сдвиг в интерференционной картине может быть измерен в реальном времени. Двумя кинетическими терминами, которые описывают аффинность взаимодействия мишени/цели и аналита, являются константа ассоциации (k_a) и константа диссоциации (k_d). Отношение этих двух терминов (k_d/k_a) дает константу аффинности K_D . Определение аффинности связывания как иммуномодуляторного полипептида дикого типа (например, ИЛ-2) с его рецептором (например, ИЛ-2Р), так и вариантного иммуномодуляторного полипептида (например, вариантного ИЛ-2, как описано в данном документе) с его когнатным коиммуномодуляторным полипептидом (например, его рецептором) (например, ИЛ-2Р), таким образом, позволяет определить относительную аффинность связывания варианта коиммуномодуляторного полипептида по сравнению с коиммуномодуляторным полипептидом дикого типа с когнатным коиммуномодуляторным полипептидом. То есть можно определить, снижается ли аффинность связывания вариантного иммуномодуляторного полипептида с его рецептором (его родственным иммуномодуляторным полипептидом) по сравнению с аффинностью связывания иммуномодуляторного полипептида дикого типа с тем же родственным иммуномодуляторным полипептидом и, если это так, каково процентное снижение по сравнению с аффинностью связывания коиммуномодуляторного

полипептида дикого типа.

Анализ BLI проводят в многолуночном планшете. Для проведения анализа создают схему планшета, планируют этапы анализа и назначают биосенсоры в программном обеспечении Octet Data Acquisition. Биосенсорная сборка гидратируется. Сборку гидратированного биосенсора и планшет для анализа адаптируют в течение 10 минут на приборе Octet. Сразу после получения, полученные данные загружаются в программу анализа данных Octet. Данные обрабатываются в окне обработки путем указания способа вычитания эталона, выравнивания по оси Y, межшаговой коррекции и фильтрации Савицкого-Голея. Данные анализируются в окне анализа путем указания шагов для анализа (ассоциация и диссоциация), выбора модели подбора кривой (1:1), способа подгонки (глобального) и окна интереса (в секундах). Оценивается качество подгонки. Значения K_D для каждой кривой данных (концентрация аналита) могут быть усреднены, если они находятся в пределах 3-х кратного диапазона. Значения ошибки K_D должны быть в пределах одного порядка значений константы сродства; Значения R^2 должны быть выше 0,95. См., например, Abdiche et al. (2008) *J. Anal. Biochem.* 377:209.

В некоторых случаях отношение: i) аффинности связывания контрольного, мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, (при этом контроль включает иммуномодуляторный полипептид дикого типа, например, ИЛ-2 дикого типа) с когнатным коиммуномодуляторным полипептидом (например, ИЛ-2Р) к ii) аффинности связывания, мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, по данному изобретению, содержащего вариант иммуномодуляторного полипептида дикого типа (например, вариантный ИЛ-2) с родственным иммуномодуляторным полипептидом (например, ИЛ-2Р) при измерении с помощью BLI (как описано выше) составляет, по меньшей мере, 1,5:1, по меньшей мере, 2:1, по меньшей мере, 5:1, по меньшей мере, 10:1, по меньшей мере, 15:1, по меньшей мере, 20:1, по меньшей мере, 25:1, по меньшей мере, 50:1, по меньшей мере, 100:1, по меньшей мере, 500:1, по меньшей мере, 10^2 :1, по меньшей мере, 5×10^2 :1, по меньшей мере, 10^3 :1, по меньшей мере, 5×10^3 :1, по меньшей мере, 10^4 :1, по меньшей мере, 10^5 :1 или, по меньшей мере, 10^6 :1. В некоторых случаях отношение: i) аффинности связывания контрольного, мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки, (причем контроль включает иммуномодуляторный полипептид дикого типа) к когнатному коиммуномодуляторному полипептиду к ii) аффинности связывания Т клеточного иммуномодуляторного мультимерного полипептида по данному изобретению, содержащего вариант иммуномодуляторного полипептида дикого типа к когнатному коиммуномодуляторному полипептиду, при измерении BLI, находится в диапазоне от 1,5:1 до 10^6 :1, например, от 1,5:1 до 10:1, от 10:1 до 50:1, от 50:1 до 10^2 :1, от

$10^2:1$ до $10^3:1$, от $10^3:1$ до $10^4:1$, от $10^4:1$ до $10^5:1$ или от $10^5:1$ до $10^6:1$.

В некоторых случаях отношение: i) аффинности связывания контрольного иммуномодуляторного полипептида (причем контроль включает иммуномодуляторный полипептид дикого типа, например, ИЛ-2 дикого типа) с когнатным коиммуномодуляторным полипептидом (например, ИЛ-2Р) к ii) аффинность связывания иммуномодуляторного полипептида по данному изобретению, содержащего вариант иммуномодуляторного полипептида дикого типа (например, вариантный ИЛ-2) с когнатным иммуномодуляторным полипептидом (например, ИЛ-2Р), когда измеряется BLI (как описано выше), составляет, по меньшей мере, 1,5:1, по меньшей мере, 2:1, по меньшей мере, 5:1, по меньшей мере, 10:1, по меньшей мере, 15:1, по меньшей мере, 20:1, по меньшей мере, 25 :1, по меньшей мере, 50:1, по меньшей мере, 100:1, по меньшей мере, 500:1, по меньшей мере, $10^2:1$, по меньшей мере, $5 \times 10^2:1$, по меньшей мере, $10^3:1$, по меньшей мере, $5 \times 10^3:1$, по меньшей мере, $10^4:1$, по меньшей мере, $10^5:1$ или, по меньшей мере, $10^6:1$. В некоторых случаях отношение: i) аффинности связывания контрольного иммуномодуляторного полипептида (причем контроль включает иммуномодуляторный полипептид дикого типа) с когнатным коиммуномодуляторным полипептидом к ii) аффинности связывания иммуномодуляторного полипептида по данному раскрытию, содержащего вариант иммуномодуляторного полипептида дикого типа, к когнатному коиммуномодуляторному полипептиду, при измерении BLI, находится в диапазоне от 1,5:1 до $10^6:1$, например от 1,5:1 до 10:1, от 10:1 до 50:1, от 50:1 до $10^2:1$, от $10^2:1$ до $10^3:1$, от $10^3:1$ до $10^4:1$, от $10^4:1$ до $10^5:1$ или от $10^5:1$ до $10^6:1$.

Вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, может иметь одну аминокислотную замену относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет от 2 до 10 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность изображенной на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 2 аминокислотные замены относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 3 аминокислотные замены относительно ИЛ-2

полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 4 аминокислотные замены относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 5 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 6 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 7 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 8 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 9 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в полипептиде synTas по данному изобретению, имеет 10 аминокислотных замен относительно ИЛ-2 полипептида дикого типа (например, ИЛ-2 полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 2А или как указано в SEQ ID NO:1).

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит первый полипептид и второй полипептид, причем первый полипептид содержит от аминоконца (N-конца) до карбоксильного конца (С-конца): а) эпитоп (например, Т-клеточный эпитоп); б) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) и с) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид

по данному изобретению); и при этом второй полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) второй полипептид ГКГС; и б) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig). В других случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит первый полипептид и второй полипептид, причем первый полипептид содержит, от N-конца к С-концу: а) эпитоп (например, эпитоп Т-клеток); и б) первый полипептид ГКГС; и при этом указанный второй полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); б) второй полипептид ГКГС; и с) Fc-полипептид Ig. В некоторых случаях первый и второй полипептиды ГКГС являются полипептидами ГКГС класса I; например, в некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина (B2M или β 2M) ГКГС класса I, а второй полипептид ГКГС представляет собой тяжелую цепь ГКГС класса I (H-цепь); или первый полипептид ГКГС представляет собой H-цепь ГКГС класса I, и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2M ГКГС класса I). В других случаях первый и второй полипептиды ГКГС являются полипептидами ГКГС класса II; например, в некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид α -цепи ГКГС класса II, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид β -цепи ГКГС класса II. В других случаях первый полипептид представляет собой полипептид β -цепи ГКГС класса II, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид α -цепи ГКГС класса II. В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит два или более иммуномодуляторных полипептида, причем, по меньшей мере, один из иммуномодуляторных полипептидов представляет собой вариантный иммуномодуляторный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению. Когда мультимерный полипептид по данному изобретению включает два или более иммуномодуляторных полипептида, в некоторых случаях два или более иммуномодуляторных полипептида присутствуют в одной и той же полипептидной цепи и могут находиться в тандеме. Когда мультимерный полипептид по данному изобретению включает два или более иммуномодуляторных полипептида, в некоторых случаях два или более иммуномодуляторных полипептида присутствуют в отдельных полипептидах. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному раскрытию представляет собой гетеродимер. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению представляет собой тримерный полипептид.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; и ii) Fc-полипептид Ig; и iii)

иммуномодуляторный домен (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению). В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; и ii) иммуномодуляторный домен (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению). В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) иммуномодуляторный домен (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); и ii) второй полипептид ГКГС. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) иммуномодуляторный домен (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС. В некоторых случаях, когда мультимерный полипептид по данному изобретению содержит не-Ig-каркас, этот не-Ig-каркас представляет собой пептид XTEN, полипептид трансферрина, полипептид рецептора Fc, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид, или шелкоподобный эластиноподобный полипептид.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению является одновалентным. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному раскрытию является многовалентным. В некоторых случаях многовалентный мультимерный полипептид по данному изобретению содержит Fc-полипептид иммуноглобулина на одном из первого или второго полипептида. Например, в зависимости от полипептида Fc, присутствующего в мультимерном полипептиде по данному изобретению, мультимерный полипептид может представлять собой гомодимер, причем две молекулы мультимерного полипептида присутствуют в гомодимере, причем две молекулы мультимерного полипептида могут быть дисульфидно связаны друг с другом, например, через Fc-полипептид, присутствующий в двух молекулах. В качестве другого примера, мультимерный полипептид по данному изобретению может содержать три, четыре или пять молекул мультимерного полипептида, причем молекулы мультимерного полипептида могут быть дисульфидно связаны друг с другом, например, через Fc-полипептид, присутствующий в молекулах.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению

содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; ii) полипептид $\beta 2M$; и iii) вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) Fc-полипептид. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; и ii) полипептид $\beta 2M$; и б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу: i) вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; ii) тяжелую цепь ГКГС класса I; и iii) Fc-полипептид. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; ii) полипептид $\beta 2M$; iii) первый вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; iv) второй вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; и v) третий вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) Fc-полипептид. В некоторых случаях первый, второй и третий варианты ИЛ-2 полипептиды имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый, второй и третий варианты ИЛ-2 полипептиды отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; и ii) полипептид $\beta 2M$; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) первый вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; ii) второй вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; и iii) третий вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; iv) тяжелую цепь ГКГС класса I; и v) Fc-полипептид. В некоторых случаях первый, второй и третий варианты ИЛ-2 полипептиды имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый, второй и третий варианты ИЛ-2 полипептиды отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности.

Линкеры

Мультимерный полипептид по данному изобретению может включать линкерные пептиды, расположенные между, например, эпитопом и полипептидом ГКГС; между полипептидом ГКГС и иммуномодуляторным полипептидом; между полипептидом ГКГС и Fc-полипептидом Ig; между первым вариантным ИЛ-2 полипептидом и вторым вариантным ИЛ-2 полипептидом; или между вторым вариантным ИЛ-2 полипептидом и третьим вариантным ИЛ-2 полипептидом.

Подходящие линкеры (также называемые «спейсерами») могут быть легко выбраны и могут иметь любую из подходящих длин, таких как от 1 аминокислоты до 25 аминокислот, от 3 аминокислот до 20 аминокислот, от 2 аминокислот до 15 аминокислот, от 3 до 12 аминокислот, в том числе от 4 до 10 аминокислот, от 5 до 9 аминокислот, от 6 до 8 аминокислот или от 7 до 8 аминокислот. Подходящий линкер может быть 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислот в длину.

Иллюстративные линкеры включают глициновые полимеры $(G)_n$, глицин-сериновые полимеры (включая, например, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO: 89) и $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 86), причем n представляет собой целое число, по меньшей мере, 1), глицин-аланиновые полимеры, аланин-сериновые полимеры и другие гибкие линкеры, известные в данной области. Могут быть использованы глициновые и глицин-сериновые полимеры; как Gly, так и Ser относительно неструктурированы и, следовательно, могут служить нейтральными связующими между компонентами. Полимеры глицина могут быть использованы; глицин получает доступ к значительно большему пространству ϕ - ψ , чем даже аланин, и гораздо менее ограничен, чем остатки с более длинными боковыми цепями (см. Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992)). Иллюстративные линкеры могут содержать аминокислотные последовательности, включая, но не ограничиваясь этим, GGSG (SEQ ID NO: 2), GGSGG (SEQ ID NO: 3), GSGSG (SEQ ID NO: 4), GSGGG (SEQ ID NO: 5), GGGSG (SEQ ID NO: 6), GSSSG (SEQ ID NO: 7) и тому подобные. Иллюстративные линкеры могут включать, например, $Gly(Ser_4)_n$, причем n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO: 93), причем n равно 4. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO: 94), причем n равно 5. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 9), причем n равно 1. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 92), причем n равно 2. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 89), причем n равно 3. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 90), причем n равно 4. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 91), причем n равно 5.

В некоторых случаях линкерный полипептид, присутствующий в первом полипептиде мультимерного полипептида по данному изобретению, включает остаток цистеина, который может образовывать дисульфидную связь с остатком цистеина,

присутствующим во втором полипептиде мультимерного полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях, например, подходящий линкер содержит аминокислотную последовательность GCGASGGGSGGGGS (SEQ ID NO:10).

Эпитопы

Эпитоп, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, может иметь длину от около 4 аминокислот до около 25 аминокислот, например, эпитоп может иметь длину от 4 аминокислот (ак) до 10 ак, от 10 ак до 15 ак, от 15 ак до 20 ак или от 20 ак до 25 ак. Например, эпитоп, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, может иметь длину 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7, ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак. В некоторых случаях эпитоп, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину от 5 аминокислот до 10 аминокислот, например, 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак или 10 ак.

Эпитоп, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, специфически связан с Т-клеткой, то есть эпитоп специфически связан с эпитоп-специфичной Т-клеткой. Эпитоп-специфичная Т-клетка связывает эпитоп, имеющий контрольную аминокислотную последовательность, но по существу не связывает эпитоп, который отличается от контрольной аминокислотной последовательности. Например, специфичная к эпитопу Т-клетка связывает эпитоп, имеющий контрольную аминокислотную последовательность, и связывает эпитоп, который отличается от контрольной аминокислотной последовательности, если вообще связывает, с аффинностью менее чем 10^{-6} М, менее чем 10^{-5} М или менее, чем 10^{-4} М. Эпитоп специфичные Т-клетки могут связываться с эпитопом, для которого они являются специфичными с аффинностью, по меньшей мере, 10^{-7} М, по меньшей мере, 10^{-8} М, по меньшей мере, 10^{-9} М или, по меньшей мере, 10^{-10} М.

Подходящие эпитопы включают, но не ограничиваются ими, эпитопы, присутствующие в антигене, связанном с раком. Связанные с раком антигены включают, но не ограничиваются ими, α -фолатный рецептор; карбоангидразу IX (CAIX); CD19; CD20; CD22; CD30; CD33; CD44v7/8; карциноэмбриональный антиген (CEA - carcinoembryonic antigen); эпителиальный гликопротеин-2 (EGP-2 - epithelial glycoprotein-2); эпителиальный гликопротеин-40 (EGP-40 - epithelial glycoprotein-40); белок, связывающий фолат (FBP - folate binding protein); фетальный ацетилхолиновый рецептор; ганглиозидный антиген GD2; HER2/Neu; ИЛ-13P-a2; легкую цепь каппа; LeY; молекулу адгезии клеток L1; ассоциированный с меланомой антиген (MAGE - melanoma-associated

antigen); MAGE-A1; мезотелин; MUC1; лиганды NKG2D; онкофетальный антиген (h5T4); антиген стволовых клеток простаты (PSCA - prostate stem cell antigen); простат-специфический мембранный антиген (PSMA - prostate-specific membrane antigen); ассоциированный с опухолью гликопротеин-72 (TAG-72 - tumor-associate glycoprotein-72); и рецептор-2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-R2 - vascular endothelial growth factor receptor-2). См., например, Vigneron et al. (2013) *Cancer Immunity* 13:15; and Vigneron (2015) *BioMed Res. Int'l* Article ID 948501. В некоторых случаях эпитоп представляет собой эпитоп антигена Е7 вируса папилломы человека; см., например, Ramos et al. (2013) *J. Immunother.* 36:66.

В некоторых случаях эпитоп представляет собой ВПЧ16Е7/82-90 (LLMGTLGIV; SEQ ID NO:11). В некоторых случаях эпитоп представляет собой ВПЧ16Е7/86-93 (TLGIVCPI; SEQ ID NO:12). В некоторых случаях эпитоп представляет собой ВПЧ16Е7/11-20 (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:13). В некоторых случаях эпитоп представляет собой ВПЧ16Е7/11-19 (YMLDLQPET; SEQ ID NO: 87). См., например, Rensing et al. ((1995) *J. Immunol.* 154: 5934) для дополнительных подходящих эпитопов ВПЧ (HPV – human papilloma virus).

Полипептиды ГКГС

Как отмечено выше, мультимерный полипептид по данному изобретению включает полипептиды ГКГС. Для целей по данному изобретению термин «полипептиды главного комплекса гистосовместимости (ГКГС)» включает полипептиды ГКГС различных видов, в том числе полипептиды человеческого ГКГС (также называемые человеческими лейкоцитарными антигенами (ЧЛА)), полипептиды ГКГС грызунов (например, мыши, крысы и т. д.) и полипептиды ГКГС других видов млекопитающих (например, лагоморфов, приматов, отличных от человека, собачьих, кошачьих, копытных (например, лошадей, быков, овец, козлиных и т. д.) и тому подобного. Подразумевается, что термин «полипептид ГКГС» включает полипептиды ГКГС класса I (например, β -2-микроглобулин и тяжелую цепь ГКГС класса I) и полипептиды ГКГС класса II (например, полипептид ГКГС класса II α и полипептид ГКГС класса II β).

Как отмечено выше, в некоторых вариантах осуществления мультимерного полипептида по данному изобретению первый и второй полипептиды ГКГС являются полипептидами ГКГС класса I; например, в некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина (β 2M) ГКГС класса I, а второй полипептид ГКГС представляет собой тяжелую цепь ГКГС класса I (H-цепь). В других случаях первый и второй полипептиды ГКГС являются полипептидами ГКГС класса II;

например, в некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид α -цепи ГКГС класса II, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид β -цепи ГКГС класса II. В других случаях первый полипептид представляет собой полипептид β -цепи ГКГС класса II, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид α -цепи ГКГС класса II.

В некоторых случаях полипептид ГКГС мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой полипептид ГКГС человека, причем полипептиды ГКГС человека также называют полипептидами лейкоцитарного антигена человека (ЧЛА). В некоторых случаях полипептид ГКГС мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой полипептид ЧЛА класса I, например полипептид β 2-микроглобулина или полипептид тяжелой цепи ЧЛА класса I. Полипептиды тяжелой цепи ЧЛА класса I включают полипептиды тяжелой цепи ЧЛА-A, полипептиды тяжелой цепи ЧЛА-B, полипептиды тяжелой цепи ЧЛА-C, полипептиды тяжелой цепи ЧЛА-E, полипептиды тяжелой цепи ЧЛА-F и полипептиды тяжелой цепи ЧЛА-G. В некоторых случаях полипептид ГКГС мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой полипептид ЧЛА класса II, например, α -цепь ЧЛА класса II или β -цепь ЧЛА класса II. Полипептиды ГКГС класса II включают полипептиды DR α и β , полипептиды DM α и β , полипептиды DOA α и β , полипептиды DOB α и β , полипептиды DQ α и β , а также полипептиды DR α и β ГКГС класса II.

В качестве примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25-365 аминокислотной последовательности полипептида тяжелой цепи человеческого ЧЛА-A, представленного на Фиг. 5A.

В качестве примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, на 99%, или 100%, идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25-365 в аминокислотной последовательности следующей аминокислотной последовательности тяжелой цепи ЧЛА-A:
 GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
 WDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ

YAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
 LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
 LVETRPAGDGTFFQKWAAVVVPSGQEQRYSYCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:14).

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25-362 аминокислотной последовательности полипептида тяжелой цепи человеческого ЧЛА-В, представленного на Фиг. 5В.

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25-362 аминокислотной последовательности полипептида тяжелой цепи человеческого ЧЛА-С, представленного на Фиг. 5С.

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

GPMSLRVYFVTA VSRPGLGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
 WEEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRYYNQSKGGSHTFQRMFGCDVGSDWRLLRGYQQ
 FAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKWEQAGDAEYYRAYLEGECEVEWLRRYL
 ELGNETLLRTDSPKAHVYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMEL
 VETRPAGDGTFFQKWAAVVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW (SEQ ID NO:15).

Полипептид β 2-микроглобулина (β 2М) мультимерного полипептида по данному изобретению может представлять собой полипептид β 2М человека, полипептид β 2М примата отличного от человека, мышинный β 2М полипептид и тому подобное. В некоторых случаях полипептид β 2М содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере,

99% или 100%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью $\beta 2M$, изображенной на Фиг. 6. В некоторых случаях полипептид $\beta 2M$ содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% или 100%, идентичность аминокислотной последовательности по аминокислотам с 21 по 119 аминокислотной последовательности $\beta 2M$, изображенной на Фиг. 6.

В некоторых случаях полипептид ГКГС содержит одну аминокислотную замену относительно эталонного полипептида ГКГС (причем эталонный полипептид ГКГС может представлять собой полипептид ГКГС дикого типа), причем одиночная аминокислотная замена заменяет аминокислоту на цистеиновый (Cys) остаток. Такие остатки цистеина, когда они присутствуют в полипептиде ГКГС первого полипептида мультимерного полипептида по данному изобретению, могут образовывать дисульфидную связь с остатком цистеина, присутствующим во второй полипептидной цепи мультимерного полипептида по данному изобретению.

В некоторых случаях первый полипептид ГКГС в первом полипептиде мультимерного полипептида по данному изобретению и/или второй полипептид ГКГС во втором полипептиде мультимерного полипептида по данному изобретению включает аминокислотную замену для замены аминокислоты на цистеин, причем замещенный цистеин в первом полипептиде ГКГС образует дисульфидную связь с цистеином во втором полипептиде ГКГС, причем цистеин в первом полипептиде ГКГС образует дисульфидную связь с замещенным цистеином во втором полипептиде ГКГС, или причем замещенный цистеин в первом полипептиде ГКГС образует дисульфидную связь с замещенным цистеином во втором полипептиде ГКГС.

Например, в некоторых случаях одна из следующих пар остатков в $\beta 2$ -микроглобулине ЧЛА и тяжелой цепи ЧЛА класса I замещается цистеинами (причем номера остатков соответствуют номерам остатков зрелого полипептида): 1) остаток $\beta 2M$ 12, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 236; 2) остаток $\beta 2M$ 12, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 237; 3) остаток $\beta 2M$ 8, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 234; 4) остаток $\beta 2M$ 10, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 235; 5) остаток $\beta 2M$ 24, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 236; 6) остаток $\beta 2M$ 28, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 232; 7) остаток $\beta 2M$ 98, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 192; 8) остаток $\beta 2M$ 99, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 234; 9) остаток $\beta 2M$ 3, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 120; 10) остаток $\beta 2M$ 31, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 96; 11) остаток $\beta 2M$ 53, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 35; 12) остаток $\beta 2M$ 60, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 96; 13) остаток $\beta 2M$

60, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 122; 14) остаток β 2M 63, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I 27; 15) остаток β 2M Arg3, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Gly120; 16) остаток β 2M His31, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Gln96; 17) остаток β 2M Asp53, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Arg35; 18) остаток β 2M Trp60, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Gln96; 19) остаток β 2M Trp60, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Asp122; 20) остаток β 2M Tyr63, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Tyr27; 21) остаток β 2M Lys6, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Glu232; 22) остаток β 2M Gln8, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Arg234; 23) остаток β 2M Tyr10, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Pro235; 24) остаток β 2M Ser11, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Gln242; 25) остаток β 2M Asn24, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Ala236; 26) остаток β 2M Ser28, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Glu232; 27) остаток β 2M Asp98, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I His192; и 28) остаток β 2M Met99, остаток тяжелой цепи ЧЛА класса I Arg234. Нумерация аминокислот тяжелой цепи ГКГС/ЧЛА класса I относится к зрелой тяжелой цепи ГКГС/ЧЛА класса I без сигнального пептида. Например, в аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 5А, которая включает сигнальный пептид, Gly120 представляет собой Gly144; Gln96 представляет собой Gln120; и т. д. В некоторых случаях полипептид β 2M содержит замену R12C, а тяжелая цепь ЧЛА класса I содержит замену A236C; в таких случаях дисульфидная связь образуется между Cys-12 полипептида β 2M и Cys-236 тяжелой цепи ЧЛА класса I. Например, в некоторых случаях, остаток 236 зрелого ЧЛА-А аминокислотной последовательности (т. е. остаток 260 из аминокислотной последовательности, продемонстрированной на Фиг. 5А) замещен Cys. В некоторых случаях остаток 236 аминокислотной последовательности зрелого ЧЛА-В (то есть остаток 260 аминокислотной последовательности, продемонстрированной на Фиг. 5В) замещен Cys. В некоторых случаях остаток 236 аминокислотной последовательности зрелого ЧЛА-С (то есть остаток 260 аминокислотной последовательности, продемонстрированной на Фиг. 5С) замещен Cys. В некоторых случаях остаток 32 (соответствующий Arg-12 зрелого β 2M) аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 6 замещен Cys.

В некоторых случаях, полипептид β 2M включает в себя аминокислотную последовательность: IQRTPKIQVY SRHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSPQ KIVKWDRDM (SEQ ID NO:16). В некоторых случаях, полипептид β 2M включает в себя аминокислотную последовательность: IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSPQ KIVKWDRDM (SEQ ID NO:17).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ЧЛА класса I содержит

аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETR KVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ
YAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
LVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:14).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ЧЛА класса I содержит аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETR KVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ
YAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
LVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:18).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ЧЛА класса I включает в себя аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETR KVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ
YAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
LVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:19).

В некоторых случаях полипептид β 2M содержит следующую аминокислотную последовательность:

IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE
HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID
NO:17); и полипептид тяжелой цепи ЧЛА класса I мультимерного полипептида по

данному изобретению содержит следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETR KVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ
YAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
LVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:18), причем остатки Cys, которые подчеркнуты и выделены жирным шрифтом

формируют дисульфидную связь друг с другом в мультимерном полипептиде.

В некоторых случаях полипептид $\beta 2M$ содержит аминокислотную последовательность:

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW
SFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:17)

Иммуномодулирующие полипептиды

Мультимерный полипептид по данному изобретению содержит вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению, как описано выше, который представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому (когнатному) костимуляторному белку на Т-клетке (например, ИЛ-2Р) по сравнению с аффинностью встречающегося в природе ИЛ-2 полипептида к партнерскому костимуляторному белку (ИЛ-2Р). Таким образом, мультимерный полипептид по данному изобретению содержит вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению.

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную

[illegible]

[illegible]

меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Trp. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Е, при этом аминокислота 16 представляет собой Tug. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 до около 800 нМ, от около 800 до около 900 нМ, от около 900 до около 1 мкМ, от около 1 до около 5 мкМ, от около 5 до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Замена F42

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tug, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит

аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, причем аминокислотой 42 является Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, или по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2В, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile. В некоторых случаях единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде по данному изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTas по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В

некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замена Y45

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по

меньшей мере, 98%, или по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2F, при этом аминокислота 45 представляет собой Ile. В некоторых случаях единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде по данному изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около

400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замена Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, или по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по

меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2G, при этом аминокислота 126 представляет собой Ile. В некоторых случаях единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде по данному изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по

данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по

меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Н, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях в мультимерном полипептиде по данному изобретению присутствует единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит 2 копии вариантного ИЛ-2, содержащего замены F42A и H16A, при этом мультимерный полипептид содержит полипептиды тяжелой цепи ЧЛА класса I и $\beta 2M$, и причем 2 копии ИЛ-2 (F42A, H16A) находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около

350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В (содержащий замены Н16А и F42А).

Замены F42 и D20

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в

[illegible]

полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Gln. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Lys. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Arg. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2I, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой His. В некоторых случаях единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде по данному изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2М, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2М, ИЛ-2 полипептид(ы)

находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и E15

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 15 представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, при этом аминокислота 15 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 15 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной

последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 15 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, а аминокислота 15 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 15 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 15 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2J, при этом

[illegible]

случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16

представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях

[illegible]

аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2К, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде по данному изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в

мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 является аминокислотой, отличной от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 является Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по

[illegible]

собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2L, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде по данному изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2M, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2M, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид β 2M. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до

около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и Y45

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет

собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, а аминокислота 45 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 45 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 45 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению,

содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Asn, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2М, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях в мультимерном полипептиде по данному изобретению присутствует одна копия вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях

мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly,

Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности,

изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 16 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Asn, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности,

изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2N, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях одна копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTas по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTas по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTas, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2R, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ. от около 10 до

около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45 и Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 20, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 20, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 20, при этом аминокислота 42 представляет

собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2О, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2О, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2О, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотная последовательность, имеющая идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2О, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 126 представляет собой Val. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной

[illegible]

изображенной на Фиг. 20, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях одна копия вариантного ИЛ-2 полипептида присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и $\beta 2M$, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45, H16 и Q126

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 20

представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, при этом аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; при этом аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, при этом аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; при этом аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой

Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, на 90%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 98% или, по меньшей мере, на 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, аминокислота 45 представляет собой Gly, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, на 90%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 98% или, по меньшей мере, на 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, на 90%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 98% или, по меньшей мере, на 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Leu, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly, аминокислота 126 представляет собой Val и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, продемонстрированной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ile, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Gly и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, на 90%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 98% или, по меньшей мере, на 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Р, при этом

аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Asn, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, на 90%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 98% или, по меньшей мере, на 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, продемонстрированной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, продемонстрированной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид присутствует в мультимерном полипептиде данное раскрытие включает аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, на 90%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 98% или, по меньшей мере, на 99% по отношению к аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Р, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях присутствует одна копия вариантного ИЛ-2 полипептида. в мультимерном полипептиде по данному раскрытию. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный

полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2М, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2М, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид β 2М. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 до около 300 нМ, от около 300 до около 350 нМ, от около 350 до около 400 нМ, от около 400 до около 500 нМ, от около 500 до около 600 нМ, от около 600 до 700 нМ, от 700 до 800 нМ, от 800 до 900 нМ, от 900 до 1 мкМ, от 1 до 5 мкМ, от 5 до 10 мкМ, от около 10 до около 15 мкМ, от около 15 до около 20 мкМ, от около 20 до около 25 мкМ, от около 25 до около 50 мкМ, от около 50 до около 75 мкМ или от около 75 до 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, Q126 и H16

В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99%, идентичности аминокислотной последовательности аминокислотной последовательности, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, при этом аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; при этом аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, при этом аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и при этом аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, при этом аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; при этом аминокислота 126 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и при этом аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Gly, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 126 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере,

[illegible]

некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 2Q, при этом аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой His, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях в мультимерном полипептиде по данному изобретению присутствует одна копия вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда две копии находятся тандемно без линкера между двумя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит три копии вариантного ИЛ-2 полипептида, например, когда три копии находятся тандемно без линкера между тремя копиями или тандемно и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2M, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь ЧЛА класса I. В некоторых случаях, когда ИЛ-2/synTас по данному изобретению содержит тяжелую цепь ЧЛА класса I и β 2M, ИЛ-2 полипептид(ы) находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид β 2M. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид или synTас, включающий вариантный ИЛ-2 полипептид, имеет аффинность связывания с ИЛ-2Р, которая составляет от около 100 нМ до около 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид имеет длину 133 аминокислоты.

Множественные иммуномодуляторные домены

Как отмечено выше, в некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит два или более иммуномодуляторных полипептида, причем, по меньшей мере, один из указанных двух или более иммуномодуляторных полипептидов

представляет собой вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит две или более копии вариантного ИЛ-2 полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях два или более вариантных ИЛ-2 полипептидов находятся в одной и той же полипептидной цепи мультимерного полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях два или более вариантных ИЛ-2 полипептида находятся на отдельных полипептидных цепях мультимерного полипептида по данному изобретению.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит первый иммуномодуляторный полипептид и, по меньшей мере, второй иммуномодуляторный полипептид, причем первый иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению, а второй иммуномодуляторный полипептид не является ИЛ-2 полипептидом. Например, в некоторых случаях второй иммуномодуляторный полипептид является членом суперсемейства фактора некроза опухоли (ФНО); например, полипептид FasL, полипептид 4-1BBL, полипептид CD40, полипептид OX40L, полипептид CD30L, полипептид CD70 и т. д. В некоторых случаях второй иммуномодуляторный полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой Т-клеточный костимуляторный полипептид и является членом суперсемейства иммуноглобулинов (Ig); например, полипептид CD7, полипептид CD86, полипептид ICAM и т. д. В некоторых случаях вторым иммуномодуляторным полипептидом является 4-1BBL, OX40L, ICOS-L, ICAM, PD-L1, CD86, FasL и PD-L2. Подходящие иммуномодулирующие полипептиды мультимерного полипептида по данному изобретению включают, например, CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, ЧЛА-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептор лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4 или HVEM. В некоторых случаях второй иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант (например, вариант встречающегося в природе 4-1BBL), который проявляет аффинность (определенную, как описано выше) к его партнерскому костимуляторному белку, обнаруженному в Т-клетке, который снижается по сравнению с аффинность природного костимуляторного белка (иммуномодуляторного полипептида) к его партнерскому (когнатному) костимуляторному белку. В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит первый иммуномодуляторный полипептид и, по меньшей мере, второй иммуномодуляторный полипептид, причем ни один из них не является вариантным ИЛ-2 полипептидом. Следует понимать, что это раскрытие в целом относится к применению иммуляторных полипептидов, которые представляют собой варианты встречающихся в природе иммуляторных полипептидов, причем эти варианты проявляют аффинность

(определенную, как описано выше) к аналогам костимулирующих белков, которая снижена по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка (иммуномодуляторного полипептида) для партнерского (когнатного) костимуляторного белка.

Дополнительные, модулирующие Т-клетки, домены (MOD - modulatory domains), которые могут быть включены в мультимерный полипептид по данному изобретению, включают встречающиеся в природе или синтетические генные продукты человека (белок), аффинные реагенты (например, антитело, фрагмент антитела, одноцепочечные Fv, аптамеры, нанотела) нацеленные на генный продукт человека, включая, но не ограничиваясь этим, все секретируемые белки, появляющиеся в результате классических и неклассических (например, FGF2, IL1, S100A4) механизмов секреции, и экто-домены всех белков клеточной поверхности, закрепленных естественными генетически кодированными белковыми сегментами (одиночные или множественные мембранные сегменты) или посттрансляционные модификации, такие как связи GPI). Любой природный или синтетический аффинный реагент (например, антитело, фрагмент антитела, одноцепочечные Fv, аптамер, нанотело, лектин и т. д.), нацеленный на гликан клеточной поверхности или другую посттрансляционную модификацию (например, сульфатирование). Примеры включают, но не ограничиваются ими, члены семейства ФНО/ФНОР (OX40L, ICOSL, FASL, LTA, LTB TRAIL, CD153, ФНОSF9, RANKL, TWEAK, ФНОSF13, ФНОSF13b, ФНОSF14, ФНОSF15, ФНОSF18, CD40LG, CD70) или аффинные реагенты, направленные на членов семейства ФНО/ФНОР; члены суперсемейства иммуноглобулинов (VISTA, PD1, PD-L1, PD-L2, B71, B72, CTLA4, CD28, TIM3, CD4, CD8, CD19), цепи рецепторов Т-клеток, ICOS, лиганд ICOS, НЧЛА2, бутирофилины, BTLA, B7-H3, B7-H4, CD3, CD79a, CD79b, IgSF CAMS (включая CD2, CD58, CD48, CD150, CD229, CD244, ICAM-1), лейкоцитарные иммуноглобулиноподобные рецепторы (LILR - Leukocyte immunoglobulin like receptor), рецепторы, подобные иммуноглобулинам клеток киллеров (KIR - killer cell immunoglobulin like receptor)), члены суперсемейства лектинов, селектины, цитокины/хемокины и рецепторы цитокинов/хемокинов, факторы роста и рецепторы факторов роста), молекулы адгезии (интегрины, фибронектины, кадгерины) или экто-домены многопролетного интегрального мембранного белка или аффинные реагенты, направленные на суперсемейство иммуноглобулинов и перечисленные генные продукты. Кроме того, активные гомологи/ортологи этих генных продуктов, включая, но не ограничиваясь этим, вирусные последовательности (например, CMV, EBV), бактериальные последовательности, грибковые последовательности, эукариотические

патогены (например, *Schistosoma*, *Plasmodium*, *Babesia*, *Eimeria*, *Theileria*, *Toxoplasma*), *Entamoeba*, *Leishmania* и *Trypanosoma*) и кодирующие области, происходящие от млекопитающих. К тому же, MOD может содержать лекарственное средство с малыми молекулами, нацеленное на продукт гена человека.

Каркасные полипептиды

Мультимерный полипептид, модулирующий Т-клетки, по данному изобретению содержит Fc-полипептид или другой подходящий каркасный полипептид.

Подходящие каркасные полипептиды включают в себя каркасные полипептиды на основе антител и каркасы не на основе антител. Не основанные на антителах каркасы включают, например, альбумин, полипептид XTEN (удлиненный рекомбинантный), трансферрин, полипептид рецептора Fc, эластиноподобный полипептид (см., например, Hassouneh et al. (2012) *Methods Enzymol.* 502:215; например, полипептид, содержащий пентапептидную повторяющуюся единицу (Val-Pro-Gly-X-Gly; SEQ ID NO:100), причем X представляет собой любую аминокислоту, отличную от пролина), альбумин-связывающий полипептид, шелкоподобный полипептид (см., например, Valluzzi et al. (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165) шелкоподобно-эластиноподобный полипептид (SELP; см., например, Megeed et al. (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075) и тому подобное. Подходящие полипептиды XTEN включают, например, полипептиды, раскрытые в WO 2009/023270, WO 2010/091122, WO 2007/103515, US 2010/0189682 и US 2009/0092582; см. также Schellenberger et al. (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186). Подходящие полипептиды альбумина включают, например, человеческий сывороточный альбумин.

Подходящие каркасные полипептиды в некоторых случаях представляют собой полипептиды, увеличивающие время полужизни. Таким образом, в некоторых случаях подходящий каркасный полипептид увеличивает период полувыведения *in vivo* (например, период полужизни в сыворотке) мультимерного полипептида по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, в котором отсутствует каркасный полипептид. Например, в некоторых случаях каркасный полипептид увеличивает время полужизни *in vivo* (например, время полужизни в сыворотке) мультимерного полипептида по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, в котором отсутствует каркасный полипептид, по меньшей мере, на около 10%, при по меньшей мере, на около 15%, по меньшей мере, на около 20%, по меньшей мере, на около 25%, по меньшей мере, на около 50%, по меньшей мере, в около 2 раза, по меньшей мере, в около 2,5 раза, по меньшей мере, в около 5 раз, по меньшей мере, в около 10 раз, по меньшей мере, в около 25 раз, по меньшей мере, в около 50 раз, по меньшей мере, в около 100 раз или более чем в

100 раз. Например, в некоторых случаях Fc-полипептид увеличивает период полужизни *in vivo* (например, период полужизни в сыворотке) мультимерного полипептида по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, в котором отсутствует Fc-полипептид, по меньшей мере, на около 10%, по меньшей мере, на около 15%, по меньшей мере, на около 20%, по меньшей мере, на около 25%, по меньшей мере, на около 50%, по меньшей мере, в около 2 раза, по меньшей мере, в около 2,5 раза, по меньшей мере, в около 5 раз, по меньшей мере, в около 10 раз, по меньшей мере, в около 25 раз, по меньшей мере, в около 50 раз, по меньшей мере, в около 100 раз или более чем в 100 раз.

Fc-полипептиды

В некоторых случаях первая и/или вторая полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению содержит Fc-полипептид. Fc-полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению может представлять собой Fc IgG1 человека, Fc IgG2 человека, Fc IgG3 человека, Fc IgG4 человека и т. д. В некоторых случаях Fc-полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 75%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 98%, по меньшей мере, около 99% или 100%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью Fc-области, изображенной на Фиг. 4А-С. В некоторых случаях Fc-область содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 75%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 98%, по меньшей мере, около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с Fc-полипептидом IgG1 человека, представленном на Фиг. 4А. В некоторых случаях Fc-область содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 75%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 98%, по меньшей мере, около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с Fc-полипептидом IgG1 человека, представленном на Фиг. 4А; и содержит замену N77; например, Fc-полипептид содержит замену N77А. В некоторых случаях Fc-полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 75%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 98%, по меньшей мере, около 99% или 100% идентичности

[illegible]

меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 75%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 85%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 98%, по меньшей мере, около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 1-234 Fc-полипептида человеческого IgA, представленного на Фиг. 4C.

В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека). В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека), за исключением замены N297 аминокислотой, отличной от аспарагина. В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33C (Fc IgG1 человека, содержащий замену N297A). В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека), за исключением замены L234 аминокислотой, отличной от лейцина. В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека), за исключением замены L235 аминокислотой, отличной от лейцина. В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33 D (Fc IgG1 человека, содержащий замену L234A и замену L235A). В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека), за исключением замены P331 аминокислотой, отличной от пролина; в некоторых случаях замена представляет собой замену P331S. В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека), за исключением замен в L234 и L235 аминокислотами, отличными от лейцина. В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33A (Fc IgG1 человека), за исключением замен в L234 и L235 аминокислотами, отличными от лейцина, и замены P331 аминокислотой, отличной от пролина. В некоторых случаях Fc-полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде по данному

изобретению, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33В (Fc IgG1 человека, содержащий замены L234F, L235E и P331S).

Дополнительные полипептиды

Полипептидная цепь мультимерного полипептида по данному изобретению может включать один или несколько полипептидов в дополнение к тем, которые описаны выше. Подходящие дополнительные полипептиды включают эпитопные метки и аффинные домены. Один или несколько дополнительных полипептидов могут быть включены на N-конце полипептидной цепи мультимерного полипептида по данному изобретению, на C-конце полипептидной цепи мультимерного полипептида по данному изобретению или внутри полипептидной цепи мультимерного полипептида по данному изобретению.

Эпитопный тэг

Подходящие эпитопные тэги включают, но не ограничиваются ими, гемагглютинин (HA; например, YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 20); FLAG (например, DYKDDDDK (SEQ ID NO: 21); c-мус (например, EQKLISEEDL; SEQ ID NO) 22) и тому подобное.

Аффинный домен

Аффинные домены включают пептидные последовательности, которые могут взаимодействовать с партнером по связыванию, например, такой как иммобилизованный на твердой подложке, полезный для идентификации или очистки. Последовательности ДНК, кодирующие несколько последовательных отдельных аминокислот, таких как гистидин, при слиянии с экспрессированным белком, могут быть использованы для одностадийной очистки рекомбинантного белка путем связывания с высоким сродством с колонкой со смолой, такой как никель-сефароза. Иллюстративные аффинные домены включают His5 (HHHHH) (SEQ ID NO: 23), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO: 24), C-мус (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO: 22), FLAG (DYKDDDDK) (SEQ ID NO : 21), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO: 25), гемагглютинин, например HA тэг (YPYDVPDYA) (SEQ ID NO: 20), глутатион-S-трансферазу (GST), тиоредоксин, целлюлозосвязывающий домен, RYIRS (SEQ ID NO: 26), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO: 88), хитин-связывающий домен, S-пептид, T7-пептид, домен SH2, C-концевую PHK-метку, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO: 27), металло-связывающие домены, например, цинк-связывающие домены или кальций-связывающие домены, такие как домены из кальций-связывающих белков, например, кальмодулин, тропонин С, кальциневрин В, легкая цепь миозина, рекурейн, S-модулин, визинин, VILIP, нейрокальцин, гиппокальцин, фриквентин, кальтрактин,

большую субъединицу кальпаина, белки S100, парвальбумин, кальбиндин D9K, кальбиндин D28K и кальретинин, интеины, биотин, стрептавидин, MyoD, Id, последовательности лейцинового zipper и белка, связывающего мальтозу.

Примеры мультимерных полипептидов данного раскрытия

Далее приведены неограничивающие варианты осуществления мультимерного ИЛ-2 полипептида/synTас по данному изобретению.

В некоторых случаях мультимерный ИЛ-2 полипептид/synTас по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп; ii) полипептид β 2-микроглобулина (β 2М), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; и б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; и iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S. В некоторых случаях вариантный ИЛ-2 полипептид содержит замену H16A и F42A. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену N297A. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234A и замену L235A. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F и замену L235E. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S. В некоторых случаях второй полипептид содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом. В некоторых случаях второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из: а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида; б) вариантным ИЛ-2 полипептидом и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; и с) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1. В некоторых случаях пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃ (SEQ ID NO: 89), (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 90) и AAAGG (SEQ ID NO: 28). В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33В. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33С. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33D.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп;

ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; и b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу: i) вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; и iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену N297A. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234A и замену L235A. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F и замену L235E. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33С. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33D. В некоторых случаях во второй полипептид входят две копии вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом. В некоторых случаях второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из: а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида; b) вариантным ИЛ-2 полипептидом и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; и с) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1. В некоторых случаях пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃ (SEQ ID NO: 89), (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 90) и AAAGG (SEQ ID NO: 28).

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу: i) эпитоп, содержащий аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO:13); ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; и b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу: i) вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В, ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; и iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33А, 33В, 33С или 33D. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность,

изображенную на Фиг. 33В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33С. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33D. В некоторых случаях второй полипептид содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида. В некоторых случаях первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом. В некоторых случаях второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из: а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида; b) вариантным ИЛ-2 полипептидом и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; и c) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1. В некоторых случаях пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃ (SEQ ID NO: 89), (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 90) и AAAGG (SEQ ID NO: 28). В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33С. В некоторых случаях Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33D.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31; и b) второй полипептид, содержащий аминокислотный эквивалент, изображенной на Фиг. 22.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31; и b) второй полипептид, содержащий аминокислотный эквивалент, изображенной на Фиг. 25.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31; и b) второй полипептид, содержащий аминокислотный эквивалент, изображенный на Фиг. 28.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению. Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый ИЛ-2 полипептид по данному изобретению.

Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по данному изобретению. В некоторых случаях отдельные полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению кодируются отдельными нуклеиновыми кислотами. В некоторых случаях все полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению кодируются одной нуклеиновой кислотой. В некоторых случаях первая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению; и вторая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях одиночная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению и второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению.

Неограничивающие примеры нуклеиновых кислот данного раскрытия изображены на Фиг. 23А, Фиг. 26А, Фиг. 29А и Фиг. 32.

Отдельные нуклеиновые кислоты кодирующие отдельные полипептидные цепи мультимерного полипептида.

Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по данному изобретению. Как отмечено выше, в некоторых случаях отдельные полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению кодируются в отдельных нуклеиновых кислотах. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие отдельные полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению, функционально связаны с элементами контроля транскрипции, например промоторами, такими как промоторы, которые функционируют в эукариотической клетке, причем промотор может быть конститутивным промотором или индуцибельным промотором.

Данное раскрытие относится к первой нуклеиновой кислоте и второй нуклеиновой кислоте, причем первая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению, причем первый полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) эпитоп (например, Т-клеточный эпитоп); b) первый полипептид ГКГС; и с) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); и причем вторая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную

последовательность, кодирующую второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению, причем второй полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) второй полипептид ГКГС; и б) Fc-полипептид Ig. Подходящие Т-клеточные эпитопы, полипептиды ГКГС, иммуномодулирующие полипептиды и Fc-полипептиды Ig описаны выше. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый и второй полипептиды, функционально связаны с элементами контроля транскрипции. В некоторых случаях элемент контроля транскрипции является промотором, который функционирует в эукариотической клетке. В некоторых случаях нуклеиновые кислоты присутствуют в отдельных векторах экспрессии.

Данное раскрытие относится к первой нуклеиновой кислоте и второй нуклеиновой кислоте, причем первая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению, причем первый полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) эпитоп (например, Т-клеточный эпитоп); и б) первый полипептид ГКГС; и причем вторая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению, причем второй полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); б) второй полипептид ГКГС; и с) Fc-полипептид Ig. Подходящие Т-клеточные эпитопы, полипептиды ГКГС, иммуномодулирующие полипептиды и Fc-полипептиды Ig описаны выше. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый и второй полипептиды, функционально связаны с элементами контроля транскрипции. В некоторых случаях элемент контроля транскрипции является промотором, который функционирует в эукариотической клетке. В некоторых случаях нуклеиновые кислоты присутствуют в отдельных векторах экспрессии.

Нуклеиновая кислота кодирующая два или более полипептидов, присутствующих в мультимерном полипептиде.

Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидные последовательности, кодирующие, по меньшей мере, первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях, когда мультимерный полипептид по данному изобретению включает первый, второй и третий полипептид, нуклеиновая кислота включает нуклеотидную последовательность, кодирующую первый, второй и третий полипептиды. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый полипептид и второй полипептид

мультимерного полипептида по данному изобретению, включают протеолитически расщепляемый линкер, вставленный между нуклеотидной последовательностью, кодирующей первый полипептид, и нуклеотидной последовательностью, кодирующей второй полипептид. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению, включают внутренний сайт входа в рибосому (IRES - internal ribosome entry site), расположенный между нуклеотидной последовательностью, кодирующей первый полипептид, и нуклеотидной последовательностью, кодирующей второй полипептид. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению, включают сигнал пропуска рибосомы (или *cis*- действующий элемент гидролазы, CHYSEL - cis-acting hydrolase element), расположенный между нуклеотидной последовательностью, кодирующей первый полипептид, и нуклеотидной последовательностью, кодирующей второй полипептид. Примеры нуклеиновых кислот описаны ниже, причем протеолитически расщепляемый линкер предоставляется между нуклеотидными последовательностями, кодирующими первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению; в любом из этих вариантов осуществления вместо нуклеотидной последовательности, кодирующей протеолитически расщепляемый линкер, можно использовать IRES или сигнал пропуска рибосомы.

В некоторых случаях первая нуклеиновая кислота (например, рекомбинантный вектор экспрессии, мРНК, вирусная РНК и т. д.) Содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первую полипептидную цепь мультимерного полипептида по данному изобретению; и вторая нуклеиновая кислота (например, рекомбинантный вектор экспрессии, мРНК, вирусная РНК и т. д.) содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую вторую полипептидную цепь мультимерного полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях нуклеотидная последовательность, кодирующая первый полипептид, и вторая нуклеотидная последовательность, кодирующая второй полипептид, каждая функционально связаны с элементами контроля транскрипции, например, с промоторами, такими как промоторы, которые функционируют в эукариотической клетке, причем промотор может быть конститутивным промотором или индуцибельным промотором.

Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид, причем рекомбинантный полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) эпитоп (например, эпитоп Т-

клеток); b) первый полипептид ГКГС; c) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); d) протеолитически расщепляемый линкер; e) второй полипептид ГКГС; и f) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig). Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид, причем рекомбинантный полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: a) первый лидерный пептид; b) эпитоп; c) первый полипептид ГКГС; d) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); e) протеолитически расщепляемый линкер; f) второй лидерный пептид; g) второй полипептид ГКГС; и h) Fc-полипептид Ig. Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид, причем рекомбинантный полипептид содержит, в порядке от N-конца к С-концу: a) эпитоп; b) первый полипептид ГКГС; c) протеолитически расщепляемый линкер; d) иммуномодуляторный полипептид (например, вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению); e) второй полипептид ГКГС; и f) Fc-полипептид Ig. В некоторых случаях первый лидерный пептид и второй лидерный пептид представляют собой лидерный пептид β 2-М. В некоторых случаях нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции. В некоторых случаях элемент контроля транскрипции является промотором, который функционирует в эукариотической клетке.

Подходящие полипептиды ГКГС описаны выше. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и причем второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I. В некоторых случаях полипептид β 2-микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на Фиг. 6. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь ЧЛА-A, ЧЛА -B, ЧЛА-C, ЧЛА-E, ЧЛА-F, ЧЛА-G, ЧЛА-K или ЧЛА-L. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной на одной из Фиг. 5A-5C. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и причем второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Подходящие Fc-полипептиды описаны выше. В некоторых случаях Fc-полипептид Ig представляет собой Fc-полипептид IgG1, Fc-полипептид IgG2, Fc-полипептид IgG3, Fc-

полипептид IgG4, Fc-полипептид IgA или Fc-полипептид IgM. В некоторых случаях Fc-полипептид Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 4А-4С.

Подходящие иммуномодулирующие полипептиды описаны выше.

Подходящие протеолитически расщепляемые линкеры описаны выше. В некоторых случаях протеолитически расщепляемый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из: а) LEVLFGQP (SEQ ID NO:29); b) ENLYTQS (SEQ ID NO:30); с) DDDDK (SEQ ID NO:31); d) LVPR (SEQ ID NO:32); и е) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:33).

В некоторых случаях линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС содержит первый остаток Cys, а второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys, так что первый и второй остатки Cys обеспечивают дисульфидную связь между линкером и вторым полипептидом ГКГС. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, а второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys, так что первый остаток Cys и второй остаток Cys обеспечивают дисульфидную связь между первым полипептидом ГКГС и вторым полипептидом ГКГС.

Рекомбинантные векторы экспрессии

Данное раскрытие обеспечивает рекомбинантные векторы экспрессии, содержащие нуклеиновые кислоты по данному раскрытию. В некоторых случаях рекомбинантный вектор экспрессии является невирусным вектором. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой вирусную конструкцию, например, рекомбинантную аденоассоциированную вирусную конструкцию (см., например, патент США № 7078387), рекомбинантную аденовирусную конструкцию, рекомбинантную лентивирусную конструкцию, рекомбинантную ретровирусную конструкцию, неинтегрирующий вирусный вектор и др.

Подходящие векторы экспрессии включают, но не ограничиваются ими, вирусные векторы (например, вирусные векторы на основе вируса коровьей оспы; полиовируса; аденовируса (см., например, Li et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 35: 2543 2549, 1994; Borrás et al., Gene Ther 6: 515 524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92: 7700 7704, 1995; Sakamoto et al., N Gene Ther 5:1088 1097, 1999; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 и WO 95/00655); аденоассоциированного вируса (см., например, Ali et al.,

Hum Gene Ther 9:81-86, 1998, Flannery et al., PNAS 94: 6916-6921, 1997; Bennett et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 38: 2857-2863, 1997; Jomary et al., Gene Ther 4: 683-690, 1997, Rolling et al., Hum Gene Ther 10: 641-648, 1999; Ali et al., Hum Mol Genet 5: 591-594, 1996; Srivastava в WO 93/09239, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63: 3822-3828; Mendelson et al., Virol. (1988) 166:154-165; и Flotte et al., PNAS (1993) 90:10613-10617); SV40; вируса простого герпеса; вируса иммунодефицита человека (см., например, Miyoshi et al., PNAS 94:10319-23, 1997; Takahashi et al., J Virol 73: 7812-7816, 1999); ретровирусные векторы (например, вируса мышинной лейкемии, вируса некроза селезенки и векторов, полученных из ретровирусов, таких как вирус саркомы Рауса, вирус саркомы Харви, вирус лейкоза птиц, лентивирус, вирус иммунодефицита человека, вирус миелопролиферативной саркомы и вирус опухоли молочной железы); и тому подобное.

Специалистам в данной области известны многочисленные подходящие векторы экспрессии, и многие из них коммерчески доступны. Следующие векторы приведены в качестве примера; для эукариотических клеток-хозяев: pXT1, pSG5 (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG и pSVLSV40 (Pharmacia). Однако может использоваться любой другой вектор, если он совместим с клеткой-хозяином.

В зависимости от используемой системы хозяин/вектор, любой из подходящих элементов управления транскрипцией и трансляцией, включая конститутивные и индуцибельные промоторы, элементы энхансера транскрипции, терминаторы транскрипции и т. д., может использоваться в векторе экспрессии (см., например, Bitter et al., (1987) *Methods in Enzymology*, 153:516-544).

В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая РНК, нацеленную на ДНК, и/или сайт-направленный модифицирующий полипептид, функционально связана с контрольным элементом, например, с транскрипционным контрольным элементом, таким как промотор. Элемент контроля транскрипции может быть функциональным либо в эукариотической клетке, например в клетке млекопитающего; или прокариотической клетке (например, клетке бактерий или архей). В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая РНК, нацеленную на ДНК, и/или сайт-направленный модифицирующий полипептид, функционально связана с несколькими контрольными элементами, которые позволяют экспрессию нуклеотидной последовательности, кодирующей РНК, нацеленную на ДНК, и/или сайт-направленную модифицирующий полипептид как в прокариотических, так и в эукариотических клетках.

Неограничивающие примеры подходящих эукариотических промоторов (промоторов, функционирующих в эукариотической клетке) включают промоторы

цитомегаловируса (CMV) (ранние), тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV), SV40 (ранние и поздние), длинных концевых повторов (LTR) из ретровируса и металлотионеин-I мыши. Выбор подходящего вектора и промотора находится в пределах обычного уровня техники в данной области. Вектор экспрессии также может содержать сайт связывания рибосомы для инициации трансляции и терминатор транскрипции. Вектор экспрессии может также включать соответствующие последовательности для усиления экспрессии.

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ-ХОЗЯЕВА

Данное изобретение обеспечивает генетически модифицированную клетку-хозяин, причем указанная клетка-хозяин генетически модифицирована нуклеиновой кислотой по данному изобретению.

Подходящие клетки-хозяева включают эукариотические клетки, такие как дрожжевые клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. В некоторых случаях клетка-хозяин является клеткой линии клеток млекопитающих. Подходящие клеточные линии млекопитающих включают клеточные линии человека, клеточные линии приматов, отличных от человека, клеточные линии грызунов (например, мыши, крысы) и тому подобное. Подходящие клеточные линии млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки HeLa (например, Американская коллекция типовых культур (ATCC) № CCL-2), клетки CHO (например, ATCC № CRL9618, CCL61, CRL9096), клетки 293 (например, ATCC № CRL-1573), клетки Vero, клетки NIH 3T3 (например, ATCC № CRL-1658), клетки Huh-7, клетки BHK (например, ATCC № CCL10), клетки PC12 (ATCC № CRL1721) Клетки COS, клетки COS-7 (ATCC № CRL1651), клетки RAT1, L-клетки мыши (ATCC № CCL. 3), клетки эмбриональной почки человека (HEK) (ATCC № CRL1573), клетки HLHerG2 и тому подобное.

В некоторых случаях клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего, которая была генетически модифицирована таким образом, что она не синтезирует эндогенный β 2-М ГКГС.

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ МУЛЬТИМЕРНОГО ПОЛИПЕПТИДА

Данное раскрытие обеспечивает способы получения мультимерного полипептида по данному раскрытию. Указанные способы обычно включают культивирование в культуральной среде клетки-хозяина, которая генетически модифицирована рекомбинантным вектором экспрессии, содержащим нуклеотидную последовательность, кодирующую мультимерный полипептид; и выделение мультимерного полипептида из генетически модифицированной клетки-хозяина и/или культуральной среды. Клетка-

хозяин, которая генетически модифицирована рекомбинантным экспрессирующим вектором, содержащим нуклеотидную последовательность, кодирующую мультимерный полипептид, также называется «экспрессирующим хозяином». Как отмечено выше, в некоторых случаях отдельные полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению кодируются в отдельных рекомбинантных векторах экспрессии. В некоторых случаях все полипептидные цепи мультимерного полипептида по данному изобретению кодируются в одном рекомбинантном векторе экспрессии.

Выделение мультимерного полипептида из экспрессирующей клетки-хозяина (например, из лизата экспрессирующей клетки-хозяина) и/или культуральной среды, в которой культивируется клетка-хозяин, может быть осуществлено с использованием стандартных способов очистки белка.

Например, лизат может быть получен из экспрессирующего хозяина и указанный лизат очищен с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), эксклюзионной хроматографии, гель-электрофореза, аффинной хроматографии или другого способа очистки. Альтернативно, когда мультимерный полипептид секретируется из экспрессирующей клетки-хозяина в культуральную среду, мультимерный полипептид может быть очищен из культуральной среды с использованием ВЭЖХ, эксклюзионной хроматографии, гель-электрофореза, аффинной хроматографии или другой методики очистки. В некоторых случаях композиции, которые используются, будут включать, по меньшей мере, 80 мас. %, по меньшей мере, около 85 мас. %, по меньшей мере, около 95 мас. %, или, по меньшей мере, около 99, 5 мас. % желаемого продукта по отношению к загрязнениям, связанным со способом приготовления продукта и его очистки. Проценты могут быть основаны на общем содержании белка.

В некоторых случаях, например, когда мультимерный полипептид содержит аффинный тэг, этот мультимерный полипептид может быть очищен с использованием иммобилизованного связывающего партнера аффинного тэга.

Композиции

Данное раскрытие обеспечивает композиции, включая фармацевтические композиции, содержащие вариантный ИЛ-2 полипептид по данному раскрытию. Данное раскрытие относится к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащие мультимерный полипептид по данному раскрытию. Данное раскрытие обеспечивает композиции, включая фармацевтические композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии данного раскрытия.

Композиции, содержащие мультимерный полипептид

Композиция по данному изобретению может содержать, помимо мультимерного полипептида по данному изобретению, один или несколько из следующих компонентов: соль, например, NaCl, MgCl₂, KCl, MgSO₄ и т. д.; буферный агент, например трис-буфер, N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(2-этансульфоновая кислота) (HEPES), 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту (MES), соль 2-(N-морфолино) этансульфоновой кислоты (MES), 3-(N-морфолино) пропансульфоновую кислоту (MOPS), N-трис [гидроксиметил] метил-3-аминопропансульфоновую кислоту (TAPS) и т. д.; солюбилизующий агент; детергент, например, неионный детергент, такой как Твин-20 и т. д.; ингибитор протеазы; глицерин; и тому подобное.

Композиция может содержать фармацевтически приемлемый эксципиент, разнообразие которых известно в данной области и не нуждается в подробном обсуждении в данном документе. Фармацевтически приемлемые наполнители были подробно описаны в различных публикациях, включая, например, «Remington: The Science and Practice of Pharmacy», 19th Ed. (1995), or latest edition, Mack Publishing Co; A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; и Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Фармацевтическая композиция может содержать мультимерный полипептид по данному изобретению и фармацевтически приемлемый наполнитель. В некоторых случаях рассматриваемая фармацевтическая композиция будет подходящей для введения субъекту, например, будет стерильной. Например, в некоторых вариантах осуществления рассматриваемая фармацевтическая композиция будет подходящей для введения человеку, например, если композиция является стерильной и не содержит обнаруживаемых пирогенов и/или других токсинов.

Белковые композиции могут содержать другие компоненты, такие как фармацевтические сорта маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, сахарина натрия, талька, целлюлозы, глюкозы, сахарозы, магния, карбоната и тому подобное. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH и буферные агенты, регулирующие токсичность агенты и тому подобное, например, ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия, гидрохлорид, сульфатные соли, сольваты (например, смешанные ионные соли, вода, органика), гидраты (например, вода) и тому подобное.

Например, композиции могут включать водный раствор, порошковую форму, гранулы, таблетки, пилюли, суппозитории, капсулы, суспензии, спреи и тому подобное. Композиция может быть составлена в соответствии с различными путями введения, описанными ниже.

Когда мультимерный полипептид по данному изобретению вводят в виде инъекций (например, подкожно, внутривенно, внутримышечно и/или внутривенно) непосредственно в ткань, препарат может быть предоставлен в виде готовой к употреблению лекарственной формы или в виде не водной формы (например, восстанавливаемый стабильный при хранении порошок) или водной формы, такой как жидкость, состоящая из фармацевтически приемлемых носителей и наполнителей. Также могут быть предоставлены белоксодержащие препараты для увеличения периода полужизни в сыворотке предметного белка после введения. Например, белок может быть представлен в виде липосомной композиции, приготовленной в виде коллоида, или другими общепринятыми способами для увеличения периода полужизни в сыворотке. Для получения липосом доступно множество способов, как описано, например, в Szoka et al. 1980 *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9: 467, патенты США. №№ 4235871, 4501728 и 4837028. Препараты могут также предоставляться в формах с контролируемым высвобождением или в форме с медленным высвобождением.

Другие примеры составов, подходящих для парентерального введения, включают изотонические стерильные инъекционные растворы, антиоксиданты, бактериостаты и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты. Например, рассматриваемая фармацевтическая композиция может присутствовать в контейнере, например стерильном контейнере, таком как шприц. Композиции могут быть предоставлены в герметичных контейнерах с единичными или многократными дозами, таких как ампулы и пузырьки, и могут храниться в высушенном замораживанием (лиофилизированном) состоянии, требуя только добавления стерильного жидкого эксципиента, например воды, для инъекций, непосредственно перед использованием. Инъекционные растворы и суспензии для немедленного введения могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток.

Концентрация мультимерного полипептида по данному изобретению в композиции может широко варьироваться (например, от менее чем около 0,1%, обычно от или, по меньшей мере, от около 2% до от около 20% до 50% или более по массе) и будет обычно выбирается в основном на основе объемов жидкости, вязкости и факторов, связанных с пациентом, в соответствии с выбранным конкретным способом введения и потребностями

пациента.

Данное раскрытие обеспечивает контейнер, содержащий композицию данного раскрытия, например, жидкую композицию. Контейнер может представлять собой, например, шприц, ампулу и тому подобное. В некоторых случаях контейнер стерилен. В некоторых случаях, как контейнер, так и композиция являются стерильными.

Данное раскрытие обеспечивает композиции, включая фармацевтические композиции, содержащие вариантный ИЛ-2 полипептид по данному раскрытию. Композиция может содержать: а) вариантный ИЛ-2 полипептид по данному изобретению; и б) эксципиент, как описано выше для мультимерных полипептидов. В некоторых случаях эксципиент представляет собой фармацевтически приемлемый эксципиент.

Композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии

Данное раскрытие обеспечивает композиции, например, фармацевтические композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии данного раскрытия. В данной области техники известно широкое разнообразие фармацевтически приемлемых эксципиентов, и нет необходимости подробно обсуждать их в данном документе. Фармацевтически приемлемые наполнители подробно описаны в различных публикациях, включая, например, A. Gennaro (2000) «Remington: the Science and Practice of Pharmacy», 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; and Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Композиция по данному изобретению может включать: а) указанную нуклеиновую кислоту или вектор рекомбинантной экспрессии; и б) один или несколько из: буфера, поверхностно-активного вещества, антиоксиданта, гидрофильного полимера, декстрина, хелатирующего агента, суспендирующего агента, солюбилизатора, загустителя, стабилизатора, бактериостатического агента, смачивающего агента, и консервант. Подходящие буферы включают, но не ограничиваются ими (такие как N, N-бис (2-гидроксиэтил) -2-аминоэтансульфоновая кислота (BES), бис (2-гидроксиэтил) амино-трис (гидроксиметил) метан (BIS- трис), N- (2-гидроксиэтил) пиперазин-N'3-пропансульфоновая кислота (EPPS или HEPPS), глицилглицин, N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота (HEPES), 3- (N-морфолино) пропан сульфокислота кислота (MOPS), пиперазин-N, N'-бис (2-этансульфокислота) (PIPES), бикарбонат натрия, 3- (N-трис (гидроксиметил) метиламино) -2-

гидроксипропансульфо кислота) TAPSO, (N-трис (гидроксиметил) метил-2-аминоэтансульфо кислота (TES), N-трис (гидроксиметил) метилглицин (трицин), трис (гидроксиметил) аминометан (трис) и др.). Подходящие соли включают, например, NaCl, $MgCl_2$, KCl, $MgSO_4$ и т. д.

Фармацевтическая композиция по данному изобретению может включать нуклеиновую кислоту или вектор рекомбинантной экспрессии по данному изобретению в количестве от около 0, 001% до около 90% (вес/вес). В описании составов ниже «рассматриваемая нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии» будет пониматься как включающая нуклеиновую кислоту или вектор рекомбинантной экспрессии по данному изобретению. Например, в некоторых вариантах осуществления композиция по данному изобретению содержит нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению.

Целевая нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии могут быть смешаны, инкапсулированы, конъюгированы или иным образом связаны с другими соединениями или смесями соединений; такие соединения могут включать, например, липосомы или направленные на рецепторы молекулы. Целевая нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии могут быть объединены в препарате с одним или несколькими компонентами, которые способствуют поглощению, распределению и/или абсорбции.

Целевая композиция нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии может быть приготовлена в виде любой из множества возможных лекарственных форм, таких как, но не ограничиваясь ими, таблетки, капсулы, гелевые капсулы, жидкие сиропы, мягкие гели, суппозитории и клизмы. Целевая композиция нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии также может быть составлена в виде суспензии в водной, неводной или смешанной среде. Водные суспензии могут дополнительно содержать вещества, которые увеличивают вязкость суспензии, включая, например, натрий карбоксиметилцеллюлозу, сорбит и/или декстран. Суспензия также может содержать стабилизаторы.

Состав, содержащий нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии, может представлять собой липосомальный состав. Используемый в данном документе термин «липосома» означает везикулу, состоящую из амфифильных липидов, упорядоченных в виде сферического бислоя или бислоев. Липосомы представляют собой однослойные или многослойные везикулы, которые имеют мембрану, образованную из липофильного материала, и водную внутреннюю часть, которая содержит композицию для доставки. Катионные липосомы представляют собой положительно заряженные

липосомы, которые могут взаимодействовать с отрицательно заряженными молекулами ДНК с образованием стабильного комплекса. Считается, что липосомы, чувствительные к рН или отрицательно заряженные, захватывают ДНК, а не образуют с ней комплексы. Как катионные, так и некатионные липосомы могут быть использованы для доставки рассматриваемой нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии.

Липосомы также включают в себя «стерически стабилизированные» липосомы, термин, который в контексте данного описания относится к липосомам, содержащим один или несколько специализированных липидов, которые при включении в липосомы приводят к увеличению продолжительности циркуляции по сравнению с липосомами, в которых отсутствуют такие специализированные липиды. Примерами стерически стабилизированных липосом являются те, в которых часть образующей пузырьки липидной части липосомы содержит один или несколько гликолипидов или дериватизирована одним или несколькими гидрофильными полимерами, такими как фрагмент полиэтиленгликоля (PEG). Липосомы и их применение дополнительно описаны в патенте США 6287860, который полностью включен в данное описание посредством ссылки.

Препараты и композиции по данному изобретению могут также включать поверхностно-активные вещества. Использование поверхностно-активных веществ в лекарственных продуктах, составах и эмульсиях хорошо известно в данной области. Поверхностно-активные вещества и их применение дополнительно описаны в патенте США 6287860.

В одном варианте осуществления включены различные усилители проникновения для эффективной доставки нуклеиновых кислот. Помимо содействия диффузии нелипофильных лекарств через клеточные мембраны, усилители проникновения также увеличивают проницаемость липофильных лекарств. Усилители проникновения могут быть классифицированы как принадлежащие к одной из пяти широких категорий, т. е. поверхностно-активные вещества, жирные кислоты, желчные соли, хелатообразующие агенты и нехелатообразующие несурфактанты. Усилители проникновения и их применение дополнительно описаны в патенте США No. 6287860, который полностью включен в данное описание посредством ссылки.

Композиции и препараты для перорального введения включают порошки или гранулы, микрочастицы, наночастицы, суспензии или растворы в воде или неводной среде, капсулы, гелевые капсулы, саше, таблетки или минитаблетки. Загустители, ароматизаторы, разбавители, эмульгаторы, диспергирующие добавки или связующие вещества могут быть желательны. Подходящие пероральные препараты включают

препараты, в которых указанную антисмысловую нуклеиновую кислоту вводят в сочетании с одним или несколькими усилителями проникновения, поверхностно-активными веществами и хелаторами. Подходящие поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваются ими, жирные кислоты и/или сложные эфиры или их соли, желчные кислоты и/или их соли. Подходящие желчные кислоты/соли и жирные кислоты и их применение дополнительно описаны в патенте США №. 6287860. Также подходящими являются комбинации усилителей проникновения, например, жирных кислот/солей в сочетании с желчными кислотами/солями. Примером подходящей комбинации является натриевая соль лауриновой кислоты, каприновой кислоты и UDCA (ursodeoxycholic acid). Другие усилители проникновения включают, но не ограничиваются ими, полиоксиэтилен-9-лауриловый эфир и полиоксиэтилен-20-цетиловый эфир. Подходящие усилители проникновения также включают пропиленгликоль, диметилсульфоксид, триэтаноамин, N, N-диметилацетамид, N, N-диметилформамид, 2-пирролидон и его производные, тетрагидрофуруриловый спирт и AZONE™.

СПОСОБЫ МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ Т-КЛЕТОК

Данное раскрытие обеспечивает способ избирательной модуляции активности эпитоп-специфичной Т-клетки, включающий контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом по данному изобретению, причем контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом по данному изобретению избирательно модулирует активность эпитоп-специфичной Т-клетки. В некоторых случаях контактирование происходит *in vitro*. В некоторых случаях контактирование происходит *in vivo*. В некоторых случаях контактирование происходит *ex vivo*.

В некоторых случаях, например, когда целевой Т-клеткой является CD8⁺ Т-клетка, мультимерный полипептид содержит полипептиды ГКГС класса I (например, β2-микроглобулин и тяжелую цепь ГКГС класса I). В некоторых случаях, например, когда целевой Т-клеткой является CD4⁺ Т-клетка, мультимерный полипептид содержит полипептиды ГКГС класса II (например, α-цепь ГКГС класса II; β-цепь ГКГС класса II).

Когда мультимерный полипептид по данному изобретению включает иммуномодуляторный полипептид, который является активирующим полипептидом, контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом активирует эпитоп-специфичную Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп-специфичная Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему в раковой клетке, и контакт эпитоп-специфичной Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к раковой клетке. В некоторых случаях эпитоп-

специфичная Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на раковой клетке, и контакт эпитоп-специфичной Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает количество эпитоп-специфичных Т-клеток.

В некоторых случаях эпитоп-специфичная Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на зараженной вирусом клетке, и контакт эпитоп-специфичной Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки в отношении гклетки, инфицированной вирусом. В некоторых случаях эпитоп-специфичная Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на зараженной вирусом клетке, и контакт эпитоп-специфичной Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает количество эпитоп-специфичных Т-клеток.

Когда мультимерный полипептид по данному изобретению включает иммуномодуляторный полипептид, который является ингибирующим полипептидом, контакт Т-клетки с мультимером ингибирует эпитоп-специфичную Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп-специфичная Т-клетка представляет собой автореактивную Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему в собственном(авто) антигене, и указанное контактирование уменьшает количество автореактивных Т-клеток.

СПОСОБЫ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ ДОСТАВКИ КОСТИМУЛЯТОРНОГО ПОЛИПЕПТИДА (НАПРИМЕР, ИЛ-2)

В данном раскрытии представлен способ доставки костимуляторного полипептида, такого как ИЛ-2, или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимуляторного полипептида, такого как вариантный ИЛ-2, раскрытого в данном документе, в выбранную Т-клетку или в выбранную популяцию Т-клеток. например, таким образом, что ТКР специфичен для данного эпитопа. В данном раскрытии представлен способ доставки костимуляторного полипептида, такого как ИЛ-2, или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе компостимулирующего полипептида, такого как вариантный ИЛ-2, раскрытый в данном документе, избирательно к целевой Т-клетке, несущей ТКР, специфичный к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде по данному изобретению. Указанный способ включает контактирование популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по данному изобретению. Популяция Т-клеток может представлять собой смешанную популяцию, которая включает: i) целевую Т-клетку; и ii) нецелевые Т-клетки, которые не являются специфичными к эпитопу (например, Т-клетки, которые специфичны к эпитопу(ов), отличного от эпитопа, с которым связывается специфичная к эпитопу Т-клетка). Эпитоп-

специфичная Т-клетка специфична к эпитоп-презентирующему пептиду, присутствующему в мультимерном полипептиде, и связывается с пептидным комплексом ЧЛА или пептидным комплексом ГКГС, обеспечиваемым мультимерным полипептидом. Контактное взаимодействие популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом доставляет костимуляторный полипептид (например, ИЛ-2 или вариантный ИЛ-2 с пониженной аффинностью), присутствующий в мультимерном полипептиде, избирательно к Т-клеткам, которые специфичны к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде.

Таким образом, данное раскрытие обеспечивает способ доставки костимуляторного полипептида, такого как ИЛ-2, или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимуляторного полипептида, такого как вариантный ИЛ-2, раскрытого в данном документе, или их комбинации, избирательно к целевой Т-клетке, при этом указанный способ, включает контактирование смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по данному изобретению. Смешанная популяция Т-клеток включает целевые Т-клетки и нецелевые Т-клетки. целевая Т-клетка специфична к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде. Контактное взаимодействие смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по данному изобретению доставляет костимуляторный полипептид(ы), присутствующий в мультимерном полипептиде, к целевой Т-клетке.

Например, мультимерный полипептид по данному изобретению приводится в контакт с популяцией Т-клеток, включающей: i) целевую(ые) Т-клетку(и), которая является специфичной к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде; и ii) нецелевую(ые) Т-клетку(и), например Т-клетку (и), которая специфична для второго эпитопа(ов), который не является эпитопом, присутствующим в мультимерном полипептиде. Контакт с указанной популяцией приводит к избирательной доставке костимуляторного полипептида(ов) (например, встречающегося в природе костимуляторного полипептида (например, встречающегося в природе ИЛ-2) или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимуляторного полипептида (например, вариантного ИЛ-2), раскрытого в данном документе)), который присутствует в мультимерном полипептиде, к целевой Т клетке. Таким образом, например, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 4%, 3%, 2% или 1% нецелевых Т-клеток связывают мультимерный полипептид, и в результате костимуляторный полипептид (например, ИЛ-2 или вариантный ИЛ-2) не доставляется к нецелевой Т-клетке.

В некоторых случаях популяция Т-клеток находится в пробирке. В некоторых

случаях популяция Т-клеток находится *in vitro*, и биологический ответ (например, активация и/или экспансия Т-клеток и/или фенотипическая дифференциация) популяции целевых Т-клеток на мультимерный полипептид по данному изобретению вызывается в контексте культуры *in vitro*. Например, смешанная популяция Т-клеток может быть получена от индивидуума и может контактировать с мультимерным полипептидом *in vitro*. Такое контактирование может включать однократное или многократное облучение популяции Т-клеток определенной дозой(-ами) и/или схемой(-ами) воздействия. В некоторых случаях указанное контактирование приводит к избирательному связыванию/активации и/или размножению целевых Т-клеток в популяции Т-клеток и приводит к образованию популяции активированных и/или расширенных целевых Т-клеток. В качестве примера, смешанная популяция Т-клеток может представлять собой моноклеарные клетки периферической крови (МКПК). Например, МКПК от пациента можно получить стандартными способами взятия крови и обогащения МКПК перед воздействием 0, 1-1000 нМ мультимерного полипептида по данному изобретению в стандартных условиях культивирования лимфоцитов. В моменты времени до, во время и после воздействия смешанной популяции Т-клеток при определенной дозе и графике, изобилие целевых Т-клеток в культуре *in vitro* можно отслеживать с помощью специфичных пептид-ГКГС мультимеров и/или фенотипических маркеров и/или функциональной активности (например, анализы ELISpot на цитокины). В некоторых случаях, после достижения оптимального количества и/или фенотипа антигенспецифичных клеток *in vitro*, вся или часть популяции активированных и/или размноженных целевых Т-клеток вводится индивидууму (индивидууму, от которого указанная смешанная популяция Т-клеток была получена).

В некоторых случаях популяция Т-клеток находится *in vivo*. Например, смешанная популяция Т-клеток получается от индивидуума и контактирует с мультимерным полипептидом по данному изобретению *in vitro*. Такое контактирование, которое может включать однократное или многократное воздействие Т-клеток определенной дозой (-ами) и/или схемой (-ами) воздействия в контексте культуры клеток *in vitro*, может использоваться для определения того, включает ли смешанная популяция Т-клеток Т-клетки, которые специфичны к эпитопу, презентуемому мультимерным полипептидом. Присутствие Т-клеток, которые специфичны к эпитопу мультимерного полипептида, можно определить путем анализа образца, содержащего смешанную популяцию Т-клеток, причем эта популяция Т-клеток содержит Т-клетки, которые не являются специфичными к эпитопу (нецелевые Т-клетки) и может содержать Т-клетки, специфичные к эпитопу (целевые Т-клетки). Известные анализы могут быть использованы

для обнаружения активации и/или пролиферации целевых Т-клеток, тем самым обеспечивая анализ *ex vivo*, который может определить, обладает ли конкретный мультимерный полипептид (synTас) эпитопом, который связывается с Т-клетками, присутствующими у индивидуума, и, таким образом, будет ли иметь мультимерный полипептид потенциальное применение в качестве терапевтической композиции для этого индивидуума. Подходящие известные анализы для выявления активации и/или пролиферации целевых Т-клеток включают, например, проточно-цитометрическую характеристику Т-клеточного фенотипа и/или специфичности антигена и/или пролиферации. Такой анализ для обнаружения присутствия эпитоп-специфичных Т-клеток, например, сопутствующая диагностика, может дополнительно включать дополнительные анализы (например, анализы ELISpot на эффекторные цитокины) и/или соответствующие контроли (например, окрашивающие реагенты на антигенспецифический и антигеннеспецифический мультимерный пептид-ЧЛА) для определения того, является ли указанный мультимерный полипептид избирательно связывающим/активирующим и/или вызывающим пролиферацию целевых Т-клеток. Таким образом, например, данное раскрытие обеспечивает способ обнаружения в смешанной популяции Т-клеток, полученных от индивидуума, присутствия целевой Т-клетки, которая связывает эпитоп, представляющий интерес, причем способ включает: а) контактирование *in vitro* смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по данному изобретению, при этом мультимерный полипептид содержит эпитоп, представляющий интерес; и b) обнаружение активации и/или пролиферации Т-клеток в ответ на упомянутое контактирование, причем активированные и/или пролиферирующие Т-клетки указывают на присутствие целевой Т-клетки. Альтернативно и/или дополнительно, если активация и/или экспансия (пролиферация) желаемой популяции Т-клеток получена с использованием мультимерного полипептида, тогда вся или часть популяции Т-клеток, включающая активированные/экспандированные Т-клетки, может быть введена обратно человеку в качестве терапии.

В некоторых случаях популяция Т-клеток находится *in vivo* у индивидуума. В таких случаях способ по данному изобретению для избирательной доставки костимуляторного полипептида (например, ИЛ-2 или ИЛ-2 с пониженной аффинностью) к эпитоп-специфичной Т-клетке включает введение индивидуального мультимерного полипептида.

Эпитоп-специфичная Т-клетка, к которой избирательно доставляется костимуляторный полипептид (например, ИЛ-2 или ИЛ-2 с пониженной аффинностью), также называется в данном документе «целевой Т-клеткой». В некоторых случаях целевой Т-клеткой является регуляторная Т-клетка (Treg). В некоторых случаях Treg ингибирует

или подавляет активность аутореактивной Т-клетки.

В некоторых случаях целевой Т-клеткой является цитотоксическая Т-клетка. Например, целевая Т-клетка может быть цитотоксической Т-клеткой, специфичной к эпитопу рака (например, эпитопа, представленного раковой клеткой).

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ

Данное раскрытие обеспечивает способ избирательной модуляции активности эпитоп-специфичной Т-клетки у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот, кодирующих мультимерный полипептид, эффективное для избирательной модуляции активности эпитоп-специфичной Т-клетки у индивидуума. В некоторых случаях способ лечения по данному изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом, одного или нескольких рекомбинантных экспрессирующих векторов, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по данному изобретению. В некоторых случаях способ лечения по данному изобретению включает введение индивидууму одной или нескольких молекул мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по данному изобретению. В некоторых случаях способ лечения по данному изобретению включает введение индивидууму мультимерного полипептида по данному изобретению.

Данное раскрытие обеспечивает способ избирательной модуляции активности эпитоп-специфичной Т-клетки у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот (например, векторы экспрессии; мРНК и т. д.), содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, при этом мультимерный полипептид избирательно модулирует активность эпитоп-специфичной Т-клетки у индивидуума. Избирательно модулируя активность эпитоп-специфичной Т-клетки можно лечить заболевание или расстройство у индивидуума. Таким образом, данное раскрытие обеспечивает способ лечения, включающий введение индивидууму, нуждающемуся в этом, эффективного количества мультимерного полипептида по данному раскрытию.

В некоторых случаях иммуномодуляторный полипептид является активирующим полипептидом, а мультимерный полипептид активирует эпитоп-специфичную Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп представляет собой эпитоп, ассоциированный с раком, и мультимерный полипептид увеличивает активность Т-клетки, специфичной к эпитопу,

ассоциированного с раком.

Данное раскрытие обеспечивает способ лечения рака у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот (например, векторов экспрессии; мРНК и т. д.), содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, при этом мультимерный полипептид содержит эпитоп Т-клеток, который является эпитопом рака, и при этом мультимерный полипептид содержит один или несколько стимулирующих иммуномодуляторных полипептидов, как описано в данном документе. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество раковых клеток у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество раковых клеток у индивидуума, по меньшей мере, на 10%, по меньшей мере, на 15%, по меньшей мере, на 20%, по меньшей мере, на 25%, по меньшей мере, на 30%, по меньшей мере, на 40%, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 70%, по меньшей мере, на 80%, по меньшей мере, на 90% или, по меньшей мере, на 95% по сравнению с количеством раковых клеток у индивидуума перед введением мультимерного полипептида или в отсутствие введения мультимерного полипептида. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении одной или нескольких доз индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество раковых клеток у индивидуума до уровней не поддающихся детекции. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает массу опухоли у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает массу опухоли у индивидуума, по меньшей мере, на 10%, по меньшей мере, на 15%, по меньшей мере, на 20%, по меньшей мере, на 25%, по меньшей мере, на 30%, по меньшей мере, на 40%, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 70%, по меньшей мере, на 80%, по меньшей мере, на 90% или, по меньшей мере, на 95% по сравнению с опухолевой массой

у индивидуума перед введением мультимерного полипептида или в отсутствие введения мультимерного полипептида. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму увеличивает время выживания индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму увеличивает время выживания индивидуума, по меньшей мере, на 1 месяц, по меньшей мере, на 2 месяца, по меньшей мере, на 3 месяца, от 3 месяцев до 6 месяцев, на срок от 6 месяцев до 1 года, на срок от 1 года до 2 ак, на срок от 2 ак до 5 ак, на срок от 5 ак до 10 ак или на срок более 10 ак, по сравнению с ожидаемым временем выживания индивидуума при отсутствии введения мультимерного полипептида.

В некоторых случаях эпитоп-специфичная Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на зараженной вирусом клетке, и контакт эпитоп-специфичной Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки в отношении инфицированной вирусом клетки. В некоторых случаях эпитоп-специфичная Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на зараженной вирусом клетке, и контакт эпитоп-специфичной Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает количество эпитоп-специфичных Т-клеток.

Таким образом в данном раскрытии представлен способ лечения вирусной инфекции у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, при этом мультимерный полипептид содержит эпитоп Т-клеток, который представляет собой вирусный эпитоп, и при этом мультимерный полипептид содержит один или несколько стимулирующих иммуномодуляторных полипептидов, как описано в данном документе. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество инфицированных вирусом клеток у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество инфицированных вирусом

клеток у индивидуума, по меньшей мере, на 10%, по меньшей мере, на 15%, по меньшей мере, на 20%, по меньшей мере, на 25%, по меньшей мере, на 30%, по меньшей мере, на 40%, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 70%, по меньшей мере, на 80%, по меньшей мере, на 90% или, по меньшей мере, на 95% по сравнению с количеством инфицированных вирусом клеток у индивидуума перед введением мультимерного полипептида или в отсутствие введения с мультимерного полипептида. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество инфицированных вирусом клеток у индивидуума до уровней не поддающихся детекции.

Таким образом в данном раскрытии представлен способ лечения инфекции у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, при этом мультимерный полипептид содержит эпитоп Т-клеток, который представляет собой ассоциированный с патогеном эпитоп, и при этом мультимерный полипептид содержит один или несколько стимулирующих иммуномодуляторных полипептидов, как описано в данном документе. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество патогенов у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество патогенов у индивидуума, по меньшей мере, на 10%, по меньшей мере, на 15%, по меньшей мере, на 20%, по меньшей мере, на 25%, по меньшей мере, на 30%, по меньшей мере, на 40%, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 70%, по меньшей мере, на 80%, по меньшей мере, на 90% или, по меньшей мере, на 95% по сравнению с количеством патогенов у индивидуума перед введением мультимерного полипептида или в отсутствие введения мультимерного полипептида. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшает количество патогенов у индивидуума до уровней не поддающихся детекции. Патогены включают вирусы, бактерии, простейшие и тому

подобное.

В некоторых случаях иммуномодуляторный полипептид представляет собой ингибирующий полипептид, и мультимерный полипептид и ингибирует активность эпитоп-специфичной Т-клетки. В некоторых случаях эпитоп является собственным эпитопом, и мультимерный полипептид избирательно ингибирует активность Т-клеток, специфичных для этого эпитопа.

Данное раскрытие обеспечивает способ лечения аутоиммунного расстройства у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, при этом мультимерный полипептид содержит эпитоп Т-клеток, который является собственным эпитопом, и при этом мультимерный полипептид содержит ингибирующий иммуномодуляторный полипептид. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает число автореактивных Т-клеток, по меньшей мере, на 10%, по меньшей мере, на 15%, по меньшей мере, на 20%, по меньшей мере, на 25%, по меньшей мере, на 30%, по меньшей мере, на 40%, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере, на 70%, по меньшей мере, на 80%, по меньшей мере, на 90% или, по меньшей мере, на 95%, по сравнению с числом автореактивных Т-клеток у индивидуума до введения мультимерного полипептида или в отсутствие введения мультимерного полипептида. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, снижает выработку цитокинов Th2 у индивидуума. В некоторых случаях «эффективное количество» мультимерного полипептида представляет собой количество, которое при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму ослабляет один или несколько симптомов, связанных с аутоиммунным заболеванием у индивидуума.

Как отмечено выше, в некоторых случаях при осуществлении способа лечения субъекта мультимерный полипептид по данному изобретению вводят нуждающемуся в этом индивидууму как полипептид *сам по себе*. В других случаях при осуществлении способа лечения субъекта одну или несколько нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по данному изобретению, вводят индивидууму, нуждающемуся в этом. Таким образом, в других случаях одну или несколько нуклеиновых кислот по данному изобретению, например,

один или несколько рекомбинантных экспрессирующих векторов по данному изобретению, вводят индивидууму, нуждающемуся в этом.

Препараты

Подходящие препараты описаны выше, причем подходящие препараты включают фармацевтически приемлемый наполнитель. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) мультимерный полипептид по данному изобретению; и б) фармацевтически приемлемый наполнитель. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую мультимерный полипептид по данному изобретению; и б) фармацевтически приемлемый наполнитель; в некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой мРНК. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению; б) вторую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению; и с) фармацевтически приемлемый наполнитель. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую мультимерный полипептид по данному изобретению; и б) фармацевтически приемлемый наполнитель. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) первый рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению; б) второй рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид мультимерного полипептида по данному изобретению; и с) фармацевтически приемлемый наполнитель.

Подходящие фармацевтически приемлемые наполнители описаны выше.

Дозы

Подходящая дозировка может быть определена лечащим врачом или другим квалифицированным медицинским персоналом, основываясь на различных клинических факторах. Как хорошо известно в области медицины, дозировки для любого одного пациента зависят от многих факторов, включая размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретный полипептид или нуклеиновую кислоту, которые следует вводить, пол пациента, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие

лекарства, вводимые совместно с дозируемым. Мультимерный полипептид по данному изобретению может вводиться в количествах от 1 нг/кг массы тела до 20 мг/кг массы тела на дозу, например, от 0, 1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, например, от 0, 5 мг/кг. кг массы тела до 5 мг/кг массы тела; однако предполагаются дозы ниже или выше этого примерного диапазона, особенно с учетом вышеупомянутых факторов. Если режим представляет собой непрерывную инфузию, она также может составлять от 1 мкг до 10 мг на килограмм массы тела в минуту. Мультимерный полипептид по данному изобретению можно вводить в количестве от около 1 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела, например, от около 1 мг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела, от от около 5 мг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела, от около 10 мг/кг массы тела до около 15 мг/кг массы тела, от около 15 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела, от около 20 мг/кг массы тела до около 25 мг/кг массы тела, от около 25 мг/кг массы тела до около 30 мг/кг массы тела, от около 30 мг/кг массы тела до около 35 мг/кг массы тела от около 35 мг/кг массы тела до около 40 мг/кг массы тела или от около 40 мг/кг массы тела до около 50 мг/кг массы тела.

В некоторых случаях подходящая доза мультимерного полипептида по данному изобретению составляет от 0, 01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0, 1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела. масса от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела. Специалисты в данной области могут легко оценить частоту повторения для дозирования на основе измеренных времен пребывания и концентраций введенного агента в жидкостях или тканях организма. После успешного лечения может оказаться желательным, чтобы пациент проходил поддерживающую терапию для предотвращения рецидива болезненного состояния, при котором мультимерный полипептид по данному изобретению вводят в поддерживающих дозах в диапазоне от 0, 01 мкг до 100 г на кг тела. масса от 0, 1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела, или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела.

Специалистам в данной области техники будет понятно, что уровни доз могут варьироваться в зависимости от конкретного мультимерного полипептида, степени выраженности симптомов и подверженности субъекта побочным эффектам. Предпочтительные дозировки для данного соединения могут быть легко определены специалистами в данной области с помощью различных средств.

В некоторых вариантах осуществления вводят множественные дозы мультимерного полипептида по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению

или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению. Частота введения мультимерного полипептида по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например, серьезности симптомов и т. д. Например, в некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят один раз в месяц, два раза в месяц, три раза в месяц, каждую вторую неделю (qow), один раз в неделю (qw), два раза в неделю (biw), три раза в неделю (tiw), четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, через день (qod), ежедневно (qd), два раза в день (qid) или три раза в день (tid).

Продолжительность введения мультимерного полипептида по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению, например, период времени, в течение которого мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновая кислота по данному изобретению, или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводятся может варьировать в зависимости от любого из множества факторов, например реакции пациента и т. д. Например, мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению можно вводить в течение периода времени, составляющего от около одного дня до около одной недели, от около двух недель до четырех недель, от одного месяца до двух месяцев, от двух месяцев до четырех месяцев, от четырех месяцев до шести месяцев, от шести месяцев до восьми месяцев, от восьми месяцев до 1 года, от около 1 года до около 2 лет или от около 2 лет до около 4 лет или более.

Пути введения

Активный агент (мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению) вводят индивидууму с использованием любого доступного способа и пути, подходящих для доставки лекарственного средства, включая *in vivo* и *ex vivo* способы, а также системные и локализованные пути введения.

Обычные и фармацевтически приемлемые пути введения включают внутриопухолевое, перитуморальное, внутримышечное, интратрахеальное, интратрахеальное, внутриспинальное, подкожное, внутрикожное, местное применение, внутривенное, интравенное, интравенное, ректальное, назальное, оральное и другие энтеральные и

парентеральные пути введения. Пути введения могут быть объединены, если это желательно, или скорректированы в зависимости от мультимерного полипептида и/или желаемого эффекта. Мультимерный полипептид по данному изобретению или нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению могут быть введены в одной дозе или в нескольких дозах.

В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят локально. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутриопухолево. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят перитуморально. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутрочерепно. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят подкожно.

В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению вводят внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению вводится локально. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению вводят внутриопухолево. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению вводят перитуморально. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид по данному изобретению вводят внутрочерепно. В некоторых вариантах осуществления мультимерный полипептид вводят подкожно.

Мультимерный полипептид по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по

данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению могут быть введены хозяину с использованием любых доступных общепринятых способов и путей, подходящих для доставки обычных лекарств, включая системные или локализованные пути. В общем, пути введения, предполагаемые для использования в способе по данному изобретению, включают, но не ограничиваются ими, энтеральный, парентеральный и ингаляционный пути.

Парентеральные пути введения, отличные от ингаляционного введения, включают, но не ограничиваются этим, местный, трансдермальный, подкожный, внутримышечный, внутриорбитальный, внутрикапсулярный, внутриспинальный, интрастернальный, внутриопухолевый, перитуморальный и внутривенный, *то есть* любой путь введения, отличный от пути введения через пищеварительный канал. Парентеральное введение может быть осуществлено для осуществления системной или локальной доставки мультимерного полипептида по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению. В случае, когда желательна системная доставка, введение обычно включает инвазивное или системно всасываемое местное или слизистое введение фармацевтических препаратов.

Подходящие для лечения субъекты

Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, которые больны раком, включая индивидуумов, у которых был диагностирован рак, индивидуумов, которых лечили от рака, но которые не ответили на лечение, и индивидуумов, у которых лечили рак и которые первоначально ответили, но впоследствии стали невосприимчивыми к лечению. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых есть инфекция (например, инфекция патогеном, таким как бактерия, вирус, простейшее и т. д.). Включая индивидуумов, у которых была диагностирована инфекция и лиц, которые прошли лечение от инфекции, но не смогли ответить на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых есть бактериальная инфекция, включая индивидуумов, у которых была диагностирована бактериальная инфекция, и индивидуумов, которых лечили от бактериальной инфекции, но которые не смогли ответить на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых есть вирусная инфекция, включая индивидуумов, у которых была диагностирована вирусная инфекция, и индивидуумов, которых лечили от вирусной инфекции, но которые не смогли ответить на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению,

включают индивидуумов, у которых есть аутоиммунное заболевание, включая индивидуумов, у которых диагностировали аутоиммунное заболевание, и индивидуумов, которые лечились от аутоиммунного заболевания, но не смогли ответить на лечение.

В некоторых случаях, например, когда эпитоп представляет собой эпитоп ВПЧ (HPV), субъектом, подходящим для лечения способом по данному изобретению, является индивидуум, у которого был диагностирован рак, ассоциированный с ВПЧ, или рак, ВПЧ. ВПЧ-ассоциированные и ВПЧ-обусловленные раковые заболевания включают, например, рак головы и шеи; рак шейки матки; и рак мочеполовой системы.

ПРИМЕРЫ НЕОГРАНИЧИВАЮЩИХ АСПЕКТОВ РАСКРЫТИЯ

Аспекты, включая варианты осуществления данного предмета изобретения, описанные выше, могут быть полезны отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими аспектами или вариантами осуществления. Не ограничивая вышеприведенное описание, некоторые неограничивающие аспекты раскрытия, пронумерованные 1-132, продемонстрированы ниже. Как будет понятно специалистам в данной области техники после прочтения этого раскрытия, каждый из отдельно пронумерованных аспектов может использоваться или комбинироваться с любым из предшествующих или следующих отдельно пронумерованных аспектов. Это предназначено для обеспечения поддержки всех таких комбинаций аспектов и не ограничивается комбинациями аспектов, явно предоставленными ниже:

Аспект 1. Вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 85%, указанной в SEQ ID NO:1, причем указанный вариантный ИЛ-2 полипептид имеет одну или несколько аминокислотных замен относительно последовательности, представленной в SEQ. ID NO:1, и причем указанный вариантный ИЛ-2 полипептид проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором ИЛ-2 (ИЛ-2Р), содержащим полипептиды альфа, бета и гамма, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на Фиг. 3А-3С, по сравнению с аффинностью связывания аминокислотной последовательности ИЛ-2, указанной в одной из SEQ ID NO:1 с ИЛ-2Р.

Аспект 2. Вариантный ИЛ-2 полипептид по аспекту 1, причем указанный вариант включает замену одной или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

Аспект 3. Вариантный ИЛ-2 полипептид по аспекту 1 или аспекту 2, причем указанный вариантный иммуномодуляторный полипептид проявляет от менее чем 10% до менее чем 50% аффинности связывания, проявляемой аминокислотной

последовательностью ИЛ-2, указанной в SEQ ID NO:1 с ИЛ-2Р.

Аспект 4. Вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-3, причем указанный вариант включает замены F42 на Ala, Gly, Val, Ile или Leu.

Аспект 5. Вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-3, причем указанный вариант включает замены F42 и D20 или замены F42 и H16.

Аспект 6. Вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-3, причем указанный вариант включает замены F42, D20 и Y45; или причем указанный вариант включает замены F42, H16 и Q126.

Аспект 7. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп;

ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) второй полипептид ГКГС; а также

ii) необязательно Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

при этом мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих доменов, причем один или несколько иммуномодулирующих доменов находятся:

A) на С-конце первого полипептида;

B) на N-конце второго полипептида;

C) на С-конце второго полипептида; или же

D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида, и

причем, по меньшей мере, один из иммуномодулирующих доменов находится вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и причем этот указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку.

Аспект 8. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп;

ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) второй полипептид ГКГС; а также

ii) необязательно Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

при этом мультимерный полипептид содержит один или несколько

иммуномодулирующих доменов, причем один или несколько иммуномодулирующих доменов находятся:

- A) на С-конце первого полипептида;
- B) на N-конце второго полипептида;
- C) на С-конце второго полипептида; или же
- D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида,

причем, по меньшей мере, один из одного или нескольких иммуномодулирующих доменов представляют собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-6, и

при этом мультимерный полипептид проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором ИЛ-2 (ИЛ-2Р), содержащим полипептиды альфа, бета и гамма, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на Фиг. 3А-3С, по сравнению с аффинностью связывания контрольного мультимерного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность ИЛ-2, приведенную в SEQ ID NO:1 для ИЛ-2Р полипептида.

Аспект 9. Мультимерный полипептид по аспекту 8, в котором:

- a) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; а также
 - iii) вариантный ИЛ-2 полипептид; а также
- b) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС; а также
 - ii) Fc-полипептид Ig.

Аспект 10. Мультимерный полипептид по аспекту 8, в котором:

- a) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) эпитоп; а также
 - ii) первый полипептид ГКГС; а также
- b) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) вариантный ИЛ-2 полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС; а также
 - iii) Fc-полипептид Ig.

Аспект 11. Мультимерный полипептид по аспекту 8, в котором:

- a) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) эпитоп; а также
 - ii) первый полипептид ГКГС; а также
- b) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) второй полипептид ГКГС; а также
- ii) вариантный ИЛ-2 полипептид.

Аспект 12. Мультимерный полипептид по аспекту 8, в котором:

- a) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) эпитоп; а также
 - ii) первый полипептид ГКГС; а также
- b) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:
 - i) вариантный ИЛ-2 полипептид; а также
 - ii) второй полипептид ГКГС.

Аспект 13. Мультимерный полипептид по аспекту 8, в котором:

- a) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; а также
 - iii) вариантный ИЛ-2 полипептид; а также
- b) второй полипептид содержит второй полипептид ГКГС.

Аспект 14. Мультимерный полипептид по аспекту 7 или 8, причем не-Ig каркас представляет собой полипептид ХТЕН, полипептид трансферрина, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид или шелкоподобно-эластиноподобный полипептид.

Аспект 15. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-14, причем первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и причем второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

Аспект 16. Мультимерный полипептид по аспекту 15, причем полипептид β 2-микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, обладающую, по меньшей мере, 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на Фиг. 6.

Аспект 17. Мультимерный полипептид по аспекту 15, причем полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь ЧЛА-А, ЧЛА-В или ЧЛА-С.

Аспект 18. Мультимерный полипептид по аспекту 15, причем полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной на одной из Фиг. 5А-5С.

Аспект 19. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-14, причем первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и причем второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Аспект 20. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-19, причем эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

Аспект 21. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-13 и 15-20, при этом мультимерный полипептид содержит Fc-полипептид, и причем Fc-полипептид Ig представляет собой Fc-полипептид IgG1, Fc-полипептид IgG2, Fc-полипептид IgG3, Fc-полипептид IgG4 Fc-полипептид IgA или Fc-полипептид IgM.

Аспект 22. Мультимерный полипептид по аспекту 21, причем Fc-полипептид Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 4А-4С.

Аспект 23. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-22, причем первый полипептид и второй полипептид нековалентно связаны.

Аспект 24. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-22, причем первый полипептид и второй полипептид ковалентно связаны друг с другом.

Аспект 25. Мультимерный полипептид по аспекту 24, причем ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь.

Аспект 26. Мультимерный полипептид по аспекту 25, причем первый полипептид ГКГС или линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС содержит аминокислотную замену для обеспечения первого остатка Cys, и второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для обеспечения второго остатка Cys и причем дисульфидная связь находится между первым и вторым остатками Cys.

Аспект 27. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-26, содержащий линкер, вставленный между эпитопом и первым полипептидом ГКГС.

Аспект 28. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-26, включающий линкер, вставленный между полипептидом ГКГС и иммуномодуляторным полипептидом.

Аспект 29. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-28, включающий 2 вариантных ИЛ-2 полипептида.

Аспект 30. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8-28, включающий 3 вариантных ИЛ-2 полипептида.

Аспект 31. Мультимерный полипептид по аспекту 29 или аспекту 30, причем 2 или 3 вариантных ИЛ-2 полипептида находятся в тандеме, и при этом мультимерный полипептид содержит линкер между указанными вариантными ИЛ-2 полипептидами.

Аспект 32. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8-31, причем указанный вариантный ИЛ-2 содержит замену одной или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126 /

Аспект 33. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8-32, причем указанный вариантный ИЛ-2 содержит замену F42 на Ala, Gly, Val, Ile или Leu.

Аспект 34. Мультимерный полипептид по аспекту 33, причем указанный вариантный ИЛ-2 содержит замены F42 и D20 или замены F42 и H16.

Аспект 35. Мультимерный полипептид по аспекту 33, причем указанный вариантный ИЛ-2 содержит замены F42, D20 и Y45; или причем указанный вариантный ИЛ-2 содержит замены F42, H16 и Q126.

Аспект 36. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид,

i) причем рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к С-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);
- c) иммуномодуляторный полипептид;
- d) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig);

причем иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку; или же

ii) причем рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к С-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид ГКГС;
- c) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- d) иммуномодуляторный полипептид
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид Ig,

причем иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку.

Аспект 37. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид,

i) причем рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к С-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);
- c) иммуномодуляторный полипептид;
- d) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig);

причем иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант иммуномодуляторного полипептида по любому из аспектов 1-6; или же

ii) причем рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к С-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид ГКГС;
- c) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- d) иммуномодуляторный полипептид
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид Ig,

причем иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант иммуномодуляторного полипептида по любому из аспектов 1-6.

Аспект 38. Нуклеиновая кислота по аспекту 36 или 37, причем первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и причем второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

Аспект 39. Нуклеиновая кислота по аспекту 38, причем полипептид β 2-микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на Фиг. 6.

Аспект 40. Нуклеиновая кислота по аспекту 38, причем полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь ЧЛА-А, ЧЛА-В или ЧЛА-С.

Аспект 41. Нуклеиновая кислота по аспекту 40, причем полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной на любой из Фиг. 5А-5С.

Аспект 42. Нуклеиновая кислота по аспекту 36 или 37, причем первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и причем второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Аспект 43. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 36-42, причем эпитоп

представляет собой Т-клеточный эпитоп.

Аспект 44. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 36-43, причем Fc-полипептид Ig представляет собой Fc-полипептид IgG1, Fc-полипептид IgG2, Fc-полипептид IgG3, Fc-полипептид IgG4, Fc-полипептид IgA или Fc-полипептид IgM.

Аспект 45. Нуклеиновая кислота по аспекту 44, причем Fc-полипептид Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 4А-4С.

Аспект 46. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37-45, причем указанный вариантный иммуномодуляторный ИЛ-2 полипептид содержит замену одной или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

Аспект 47. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 36-46, при этом мультимерный полипептид содержит второй иммуномодуляторный полипептид, выбранный из CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, ЧЛА-G, MICA, MICB, HVEM, рецептора лимфотоксина-бета 3/TR6, ILT3, ILT4 и HVEM.

Аспект 48. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 36-47, в которой протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

- a) LEVLFQGP (SEQ ID NO: 29);
- b) ENLYTQS (SEQ ID NO: 30);
- c) сайт расщепления фурином;
- d) LVPR (SEQ ID NO: 32);
- e) GSGAΦHOSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 33);
- f) GSGEGRGSLTCTGDVEENPGP (SEQ ID NO: 34);
- g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 35); а также
- h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 36).

Аспект 49. Нуклеиновая кислота по аспекту 36-48, причем рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к С-концу:

- a) первый лидерный пептид;
- b) эпитоп;
- c) первый полипептид ГКГС;
- d) иммуномодуляторный полипептид;
- e) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- f) второй лидерный пептид;
- g) второй полипептид ГКГС; а также

h) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig).

Аспект 50. Нуклеиновая кислота по аспекту 49, причем первый лидерный пептид и второй лидерный пептид представляют собой лидерный пептид $\beta 2$ -М.

Аспект 51. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 36-50, причем нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции.

Аспект 52. Нуклеиновая кислота по аспекту 51, в которой элемент контроля транскрипции представляет собой промотор, который функционирует в эукариотической клетке.

Аспект 53. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 36-52, причем первый полипептид ГКГС или линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, а второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену чтобы получить второй остаток Cys, и причем первый и второй остатки Cys обеспечивают дисульфидную связь между первым полипептидом ГКГС и вторым полипептидом ГКГС.

Аспект 54. Рекombинантный экспрессирующий вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по любому из аспектов 36-52, и причем вектор необязательно является вирусным вектором или невирусным вектором.

Аспект 55. Клетка-хозяин, генетически модифицированная рекомбинантным вектором экспрессии по аспекту 54.

Аспект 56. Клетка-хозяин по аспекту 55, причем клетка-хозяин находится *in vitro* и причем клетка-хозяин необязательно генетически модифицирована так, что клетка не продуцирует эндогенный полипептид $\beta 2$ -микроглобулина ГКГС.

Аспект 57. Композиция, содержащая:

а) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; а также
- iii) иммуномодуляторный домен,

причем иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку; а также

б) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность,

кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) второй полипептид ГКГС; а также
- ii) Fc-полипептид Ig.

Аспект 58. Композиция, содержащая:

a) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) эпитоп; а также
- ii) первый полипептид ГКГС; а также

b) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

i) иммуномодуляторный домен, причем иммуномодуляторный домен представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку;

- ii) второй полипептид ГКГС; а также
- iii) Fc-полипептид Ig.

Аспект 59. Композиция, содержащая:

a) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; а также
- iii) иммуномодуляторный домен,

причем иммуномодуляторный домен представляет собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-6; а также

b) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) второй полипептид ГКГС; а также
- ii) Fc-полипептид Ig.

Аспект 60. Композиция, содержащая:

a) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) эпитоп; а также
- ii) первый полипептид ГКГС; а также

b) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность,

кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) иммуномодуляторный домен, причем иммуномодуляторный домен представляет собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-6;
- ii) второй полипептид ГКГС; а также
- iii) Fc-полипептид Ig.

Аспект 61. Композиция по любому из аспектов 57-60, причем первая и/или вторая нуклеиновая кислота присутствует в рекомбинантном векторе экспрессии.

Аспект 62. Клетка-хозяин генетически модифицированная композицией по любому из аспектов 57-61.

Аспект 63. Способ получения мультимерного полипептида по любому из аспектов 7-36, включающий:

- a) культивирование клетки-хозяина по любому из аспектов 55, 56 и 62 *in vitro* в культуральной среде в условиях, при которых клетка-хозяин синтезирует мультимерный полипептид; а также
- b) выделение мультимерного полипептида из клетки-хозяина и/или из культуральной среды.

Аспект 64. Способ по аспекту 63, в котором второй полипептид содержит аффинную метку и причем указанное выделение включает контактирование мультимерного полипептида, продуцируемого клеткой, с партнером по связыванию для аффинной метки, причем партнер по связыванию иммобилизован, тем самым иммобилизуя мультимерный полипептид.

Аспект 65. Способ по аспекту 64, включающий элюирование иммобилизованного мультимерного полипептида.

Аспект 66. Способ избирательной активации эпитоп-специфичной Т-клетки, включающий контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом по любому из аспектов 7-36, причем указанное контактирование избирательно активирует эпитоп-специфичную Т-клетку.

Аспект 67. Способ по аспекту 66, причем указанное контактирование происходит *in vitro*.

Аспект 68. Способ по аспекту 66, причем указанное контактирование происходит *in vivo*.

Аспект 69. Способ по аспекту 66, причем эпитоп представляет собой эпитоп, ассоциированный с раком, и причем указанное введение избирательно увеличивает активность Т-клетки, специфичной к эпитопу, ассоциированного с раком.

Аспект 70. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение

индивидууму эффективного количества:

- а) мультимерного полипептида по любому из аспектов 7-35; или же
 - б) одного или нескольких рекомбинантных экспрессирующих векторов, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-35; или же
 - с) одной или нескольких мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-35,
- причем указанный эпитоп представляет собой связанный с раком эпитоп, и причем указанное введение эффективно для избирательной активации специфичной к эпитопу раковой Т-клетки у индивидуума.

Аспект 71. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение является подкожным.

Аспект 72. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение является внутривенным.

Аспект 73. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение является перитуморальным.

Аспект 74. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение является системным.

Аспект 75. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение является дистальным по отношению к месту лечения.

Аспект 76. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение является локальным.

Аспект 77. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение происходит в месте лечения или около места лечения.

Аспект 78. Композиция, содержащая:

- а) мультимерный полипептид по любому из аспектов 7-35; а также
- б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

Аспект 79. Композиция, содержащая:

- а) нуклеиновую кислоту по любому из аспектов 36-53 или рекомбинантный вектор экспрессии по аспекту 54; а также
- б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

Аспект 80. Мультимерный полипептид, содержащий:

- а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:
 - i) эпитоп;
 - ii) полипептид β 2-микроглобулина (β 2M), содержащий аминокислотную

последовательность, изображенную на Фиг. 34А; а также

b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) вариант встречающегося в природе костимуляторного белка и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку, который необязательно может представлять собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из аспектов 1-6;

ii) полипептид тяжелой цепи с главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; а также

iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S (N77A, L14A, L15A, L14F, L15E и P111S, соответственно, на основании нумерации аминокислот продемонстрированной на Фиг. 33А).

Аспект 81. Мультимерный полипептид по аспекту 80, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену N297A (N77A на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 82. Мультимерный полипептид по аспекту 80, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234A и замену L235A (L14A и L15A на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 83. Мультимерный полипептид по аспекту 80, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F и замену L235E (L14F и L15E на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 84. Мультимерный полипептид по аспекту 80, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замены P331S (замены L14F, L15E и P111S на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 85. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 80-84, причем второй полипептид содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида.

Аспект 86. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 80-85, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом.

Аспект 87. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 80-86, причем второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из:

a) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида;

b) вариантным ИЛ-2 полипептидом и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

с) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1.

Аспект 88. Мультимерный полипептид согласно аспекту 86 или аспекту 87, причем пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃, (GGGGS)₄ и AAAGG.

Аспект 89. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп;

ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В;

ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; а также

iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S (N77A, L14A, L15A, L14F, L15E и P111S, соответственно, на основании нумерации аминокислот изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 90. Мультимерный полипептид по аспекту 89, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену N297A (N77A на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 91. Мультимерный полипептид по аспекту 89, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234A и замену L235A (L14A и L15A на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 92. Мультимерный полипептид по аспекту 89, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F и замену L235E (L14F и L15E на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 93. Мультимерный полипептид по аспекту 89, причем Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S (L14F, L15E и P111S на основе аминокислотной нумерации, изображенной на Фиг. 33А).

Аспект 94. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 89-93, причем второй полипептид содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида.

Аспект 95. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 89-94, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом.

Аспект 96. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 89-95, причем второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из:

а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида;

б) вариантным ИЛ-2 полипептидом и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

с) полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1.

Аспект 97. Мультимерный полипептид по аспекту 95 или аспекту 96, причем пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃, (GGGGS)₄ и AAAGG.

Аспект 98. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп, содержащий аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO:13);

ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В;

ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; а также

iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33А, 33В, 33С или 33D.

Аспект 99. Мультимерный полипептид по аспекту 98, причем Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33В.

Аспект 100. Мультимерный полипептид по аспекту 98, причем Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33С.

Аспект 101. Мультимерный полипептид по аспекту 98, причем Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33D.

Аспект 102. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 98-101, причем второй полипептид содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида.

Аспект 103. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 98-102, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М полипептидом.

Аспект 104. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 98-103, причем второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из:

а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида;

б) вариантным ИЛ-2 полипептидом и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

с) полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1.

Аспект 105. Мультимерный полипептид по аспекту 103 или аспекту 104, причем пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃, (GGGGS)₄ и AAAGG.

Аспект 106. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31;

б) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 22.

Аспект 107. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31;

б) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 25.

Аспект 108. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31;

б) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 28.

Аспект 109. Фармацевтическая композиция, содержащая:

а) мультимерный полипептид по любому из аспектов 80-108; а также

б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

Аспект 110. Одна или несколько нуклеиновых кислот, включающих нуклеотидные последовательности, кодирующие первый и/или второй полипептид мультимерного полипептида, согласно любому из аспектов 80-108.

Аспект 111. Одна или несколько нуклеиновых кислот по аспекту 110, причем нуклеиновая кислота (кислоты) присутствует/присутствуют в рекомбинантных векторах экспрессии.

Аспект 112. Способ избирательной активации эпитоп-специфичной Т-клетки, включающий контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом по любому из аспектов 80-108, причем указанное контактирование избирательно активирует эпитоп-специфичную Т-клетку.

Аспект 113. Способ по аспекту 112, в котором указанное контактирование происходит *in vitro*.

Аспект 114. Способ по аспекту 112, причем указанное контактирование происходит *in vivo*.

Аспект 115. Способ, включающий введение индивидууму эффективного

количества:

- а) мультимерного полипептида по любому из аспектов 80-108; или же
- б) одного или нескольких рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из аспектов 80-108; или же
- с) одной или нескольких мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из аспектов 80-108, причем указанное введение индуцирует ответ Т-клеток на эпитоп у индивидуума.

Аспект 116. Способ по аспекту 115, причем указанное введение является подкожным.

Аспект 117. Способ по аспекту 115, причем указанное введение является внутривенным.

Аспект 118. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение является системным.

Аспект 119. Способ по аспекту 115, причем указанное введение является внутримышечным.

Аспект 120. Способ по аспекту 115, причем указанное введение является дистальным по отношению к месту лечения.

Аспект 121. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение является локальным.

Аспект 122. Способ по аспекту 115, причем указанное введение находится в месте или вблизи места лечения.

Аспект 123. Способ доставки костимуляторного полипептида избирательно к целевой Т-клетке, включающий контактирование смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по любому из аспектов 7-35 и 80-108, причем смешанная популяция Т-клеток содержит целевые Т-клетки и нецелевые Т-клетки, причем целевая Т-клетка специфична к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде, и причем указанное контактирование доставляет костимуляторный полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде, к целевой Т-клетке.

Аспект 124. Способ доставки ИЛ-2 или вариантного ИЛ-2 избирательно к целевой Т-клетке, включающий контакт смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по любому из аспектов 8-35 и 80-108, причем смешанная популяция Т-клеток включает целевые Т-клетки и нецелевые Т-клетки, причем целевые Т-клетки специфичны к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде, и причем указанное контактирование доставляет вариантный ИЛ-2 или ИЛ-2, присутствующий в

мультимерном полипептид к целевой Т клетке.

Аспект 125. Способ по аспекту 123 или 124, причем популяция Т-клеток находится *in vitro*.

Аспект 126. Способ по аспекту 123 или 124, причем популяция Т-клеток находится *in vivo* у индивидуума.

Аспект 127. Способ по аспекту 126, включающий введение мультимерного полипептида индивидууму.

Аспект 128. Способ по любому из аспектов 123-127, в котором целевой Т-клеткой является регуляторная Т-клетка.

Аспект 129. Способ по любому из аспектов 123-127, в котором целевая Т-клетка представляет собой цитотоксическую Т-клетку.

Аспект 130. Способ по аспекту 123 или 124, причем смешанная популяция Т-клеток представляет собой смешанную популяцию Т-клеток, полученную от индивидуума *in vitro*, и причем указанное контактирование приводит к активации и/или пролиферации целевых Т-клеток, генерируя популяцию активированных и/или пролиферированных целевых Т клеток.

Аспект 131. Способ по п. 130, дополнительно включающий введение популяции активированных и/или пролиферированных целевых Т-клеток индивидууму.

Аспект 132. Способ обнаружения в смешанной популяции Т-клеток, полученных от индивидуума, наличия целевой Т-клетки, которая связывает эпитоп, представляющий интерес, причем способ включает: а) контактирование смешанной популяции Т-клеток *in vitro* с мультимерным полипептидом по любому из пп. 7-35 и 80-108, при этом мультимерный полипептид содержит представляющий интерес эпитоп; и б) обнаружение активации и/или пролиферации Т-клеток в ответ на упомянутое контактирование, причем активированные и/или пролиферированные Т-клетки указывают на присутствие целевой Т-клетки.

ПРИМЕРЫ

Следующие примеры приведены для того, чтобы предоставить специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, как создать и использовать данное изобретение, и не предназначены для ограничения объема того, что авторы изобретения рассматривают как свое изобретение, так и они не предназначены для обеспечения того, что приведенные ниже эксперименты являются всеми или единственными проведенными экспериментами. Были предприняты усилия для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т. д.), Но следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части

представляют собой части по массе, молекулярная масса представляет собой средневесовую молекулярную массу, температура находится в градусах Цельсия, а давление равно атмосферному или близко к нему. Можно использовать стандартные сокращения, например, по - пара(ы) оснований; кб - килобаза(ы); пл - пиколитр(ы); с или сек. - секунда(ы); мин - минута(ы); ч - час(ы); ак - аминокислота(ы); кб, килобаза(ы); по, пара(ы) оснований; нт - нуклеотид(ы); килодальтон(ы) - кДа; в/м - внутримышечно(ый); в/б внутрибрюшинно(ый); п/к - подкожно(ый); и тому подобное.

Пример 1: Производство(продукция) ИЛ-2/synTас

Была проанализирована продукция ИЛ-2/synTас транзистентно трансфицированными клетками млекопитающих. Как продемонстрировано на Фиг. 7А, уровни продукции (в мг/л культуральной среды) двух разных ИЛ-2/synTас через 6-7 дней после транзистентной трансфекции клеток были выше 90 мг/л.

ИЛ-2/synTас, продуцируемые клетками млекопитающих, очищали и подвергали электрофорезу в восстанавливающем и невосстанавливающем полиакриламидном геле. Результаты продемонстрированы на Фиг. 7В. Размеры указаны в кДа.

Был получен ИЛ-2/synTас, в котором ИЛ-2 полипептид находился в «легкой цепи» (то есть в полипептиде, содержащем легкую цепь ГКГС класса I; например, $\beta 2M$) или в «тяжелой цепи» (т. е. в полипептиде содержащем тяжелую цепь ГКГС класса I). Анализировали уровни экспрессии и стабильность ИЛ-2/synTас.

SynTас продуцировали в клетках млекопитающих. Как продемонстрировано на Фиг. 8А, ИЛ-2/synTас, содержащий ИЛ-2 на тяжелой цепи, продуцировался на уровнях, в около 25 раз превышающих уровень ИЛ-2/synTас, содержащий ИЛ-2 на легкой цепи.

ИЛ-2/synTас, продуцируемые клетками млекопитающих, подвергали восстанавливающему и невосстанавливающему электрофорезу в полиакриламидном геле; и гели окрашивали кумасси синим. Как продемонстрировано на Фиг. 8В, ИЛ-2/synTас, содержащий ИЛ-2 на тяжелой цепи, был более стабильным, чем ИЛ-2/synTас, содержащий ИЛ-2 на легкой цепи. Размеры указаны в кДа.

Были оценены уровни экспрессии ИЛ-2/synTас, включающего вариантный ИЛ-2. На Фиг. 9 продемонстрирован уровень экспрессии ИЛ-2/syn-Tacs, в котором ИЛ-2 относится к дикому типу (дт) или содержит различные комбинации F42A, D20K, Q126A, E15A, Y45A и H16A. Уровни экспрессии выражены как процентное изменение относительно уровней экспрессии synTас с ИЛ-2 дикого типа.

Было оценено влияние количества копий ИЛ-2 в ИЛ-2/synTас на уровни экспрессии. ИЛ-2/synTас содержали одну копию (1X), две копии (2X) или три копии (3X)

в synTas. Различные ИЛ-2/synTas продуцировались в клетках млекопитающих и анализировались уровни экспрессии. Указанные данные продемонстрированы на Фиг. 10. ИЛ-2/synTas с одной или двумя копиями ИЛ-2 демонстрируют сходные уровни экспрессии, тогда как ИЛ-2/synTas с тремя копиями ИЛ-2 демонстрируют более низкие уровни экспрессии. Уровни экспрессии выражены как кратное изменение относительно уровня экспрессии ИЛ-2/synTas с одной копией ИЛ-2.

Пример 2: Активность ИЛ-2/synTas in vitro

Для достижения максимальной специфичности нацеливания через Т-клеточный рецептор аффинность костимуляторного полипептида к его лиганду должна быть ниже, чем аффинность ГКГС к ТКР. Аффинность пептид/ГКГС к ТКР может составлять около 10 мкМ.

Был создан ИЛ-2/synTas, содержащий две копии вариантного ИЛ-2, содержащего замены F42A и H16A. Костимуляторная передача сигналов, индуцированная ИЛ-2/synTas, была протестирована на антиген-специфичных CD8⁺ Т-клетках и неспецифичных CD8⁺ Т-клетках. Антиген-специфичные CD8⁺ Т-клетки и неспецифичные CD8⁺ Т-клетки приводили в контакт с различными концентрациями ИЛ-2/synTas.

Как продемонстрировано на Фиг. 11, ИЛ-2/synTas индуцировал костимуляторную передачу сигналов в антиген-специфичных CD8⁺ Т-клетках в значительно более низкой концентрации, чем в неспецифичных CD8⁺ Т-клетках.

Избирательность связывания ИЛ-2/synTas была протестирована. CD8⁺ Т-клетки выделяли из селезенки мышей LCMV или OT1. Т-клетки CD8⁺ инкубировали с ИЛ-2/synTas в различных концентрациях и оставляли связываться в течение 20 минут. ИЛ-2/synTas содержат Fc IgG2a. Связывание ИЛ-2/synTas с CD8⁺ Т-клетками детектировали с использованием меченого фикоэритрином (PE) антитела против IgG2a. Флуоресценцию PE определяли с использованием проточной цитометрии для определения процента клеток, связанных с ИЛ-2/synTas.

Как продемонстрировано на Фиг. 12, ИЛ-2/synTas связывается антигенспецифичным образом с CD8⁺ Т-клетками LCMV, но не проявляет значительного связывания с OT1 CD8⁺ Т-клетками. Таким образом, ИЛ-2/synTas избирательно связывается с CD8⁺ Т-клетками, специфичными к эпитопу, присутствующему в ИЛ-2/synTas.

Было определено, избирательно ли ИЛ-2/synTas активирует целевые Т-клетки. CD8⁺ Т-клетки выделяли из селезенки мышей LCMV или OT1. Используемые ИЛ-2/synTas содержали либо замену одной аминокислоты F42A, либо замены F42A и H16A. CD8⁺ Т-клетки стимулировали ИЛ-2/synTas в различных концентрациях в течение 20

минут. Затем клетки окрашивали PE-меченным анти-фосфо-STAT5-антителом. Флуоресценцию PE определяли с помощью проточной цитометрии для определения процента клеток, которые являются фосфо-STAT5-позитивными, причем фосфо-STAT5 является маркером активации.

Как продемонстрировано на Фиг. 13, ИЛ-2/synTас индуцировал CD8⁺ стимуляцию (на что указывает % фосфо-STAT5-позитивных клеток) в антиген-специфичных (LCMV) CD8⁺ Т-клетках при значительно более низких концентрациях, чем в неспецифичных (BL6) CD8⁺ Т клетках.

Специфическая активность различных ИЛ-2/synTас была проанализирована. ИЛ-2/synTас, содержащие одну копию ИЛ-2, две копии ИЛ-2 или три копии ИЛ-2, причем ИЛ-2 содержал различные комбинации F42A, D20K, Q126A, E15A, H16A и Y45A субстраты были протестированы в различных концентрациях на стимуляцию CD8⁺ антигенспецифичных (LCMV) или неспецифичных (BL6) клеток. Определяли процентное содержание клеток позитивных по фосфо-проводнику сигнала и активатору транскрипции 5 (pSTAT5 - phospho-signal transducer and activator of transcription 5). Данные изображены на Фиг. 14A-14F.

Пример 3 : Активность ИЛ-2/synTас *in vivo*

Была протестирована активность ИЛ-2/synTас *in vivo*. Тестировали кратность изменения *in vivo* в антиген-специфичных CD8⁺ Т - клетках, после введения забуференного фосфатом физиологического раствора (ФСБ), рекомбинантного ИЛ-2 (рИЛ-2) или ИЛ-2/synTас по данному изобретению. Данные продемонстрированы на Фиг. 15, левая панель. Указанные данные показывают, что ИЛ-2/synTас в 10 раз более эффективен, чем рИЛ-2.

Была испытана специфичность ИЛ-2/synTас *in vivo*. После введения ФСБ, рИЛ-2 или ИЛ-2/synTас оценивали антиген-специфичные и антиген-неспецифичные ответы. Данные выражены в процентах клеток лимфатических узлов, которые были антигенспецифичными или антигеннеспецифичными после введения ФСБ, рИЛ-2 или ИЛ-2/synTас. Как продемонстрировано на Фиг. 15, правая панель, ИЛ-2/synTас индуцировал антиген-специфический ответ (выраженный в % максимального разведения сукцинимиდიлового эфира карбоксифлуоресцеина (CFSE - carboxyfluorescein succinimidyl ester), индекса пролиферации Т-клеток). Напротив, ответ, индуцированный рИЛ-2, не был антиген-специфичным.

Был проведен анализ доза-ответ. ИЛ-2/synTас (F42A, H16A) вводили внутривенно в концентрациях 4 мг/кг, 8 мг/кг и 16 мг/кг. Результаты продемонстрированы на Фиг. 16А. Как продемонстрировано на Фиг. 16А, ИЛ-2/synTас,

введенный в дозе 4 мг/кг или 8 мг/кг, дал аналогичные результаты; ИЛ-2/synTас, введенный в дозе 16 мг/кг, вызывал наиболее сильную иммуностимулирующую активность.

Эффект пути введения ИЛ-2/synTас был протестирован. ИЛ-2/synTас (F42A, H16A) вводили в дозе 4 мг/кг либо подкожно (SubQ - subcutaneously), либо внутривентриально (IP - intraperitoneally). Как продемонстрировано на Фиг. 16В, подкожное введение приводило к более сильной иммуностимуляторной активности, чем IP введение.

Было установлено влияние количества копий ИЛ-2 на эффективность. ИЛ-2/synTас, содержащие одну копию ИЛ-2 (F42A, H16A) или две копии ИЛ-2 (F42A, H16A), инъецировали мышам с опухолями, несущими эпитоп Е7 ВПЧ. Эпитопом, включенным в ИЛ-2/synTас, был эпитоп Е7 ВПЧ. Как продемонстрировано на Фиг. 17А и 17В, ИЛ-2/synTас, содержащий две копии ИЛ-2 (F42A, H16A), были более эффективными при уменьшении размера опухоли, чем ИЛ-2/synTас, содержащий только одну копию ИЛ-2 (F42A, H16A).

Пример 4: ФК/ФД (PK/PD) и исследования стабильности ИЛ-2/synTас

Был проведен фармакокинетический (PK - pharmacokinetic) анализ ИЛ-2/synTас. ИЛ-2/synTас (F42A, D20K, H16A) вводили IP в дозе 10 мг/кг. В различные моменты времени после введения были получены образцы сыворотки и в образцах сыворотки был измерен уровень ИЛ-2/synTас. Как продемонстрировано на Фиг. 18, период полужизни в сыворотке ИЛ-2/synTас составлял около 4 часов.

ИЛ-2/synTас вводили внутривентриально мышам C57BL/6 в дозе 10 мг/кг и сыворотку собирали через два часа после инъекций. ИЛ-2/synTас включал метку His₆. 100 нг введенного белка или эквивалента 40 мкл сыворотки подвергали электрофорезу в додецилсульфат-полиакриламидном геле (SDS-PAGE) в додецилсульфате натрия и исследовали с помощью антитела против (His)₆ или антитела против β-2М. Результаты, изображенные на Фиг. 19, показывают, что ИЛ-2/synTас остается стабильным и интактным в течение, по меньшей мере, 2 часов *in vivo*.

ИЛ-2/synTас хранили при 4°C или 37°C в течение 5 дней. 0, 5 мг каждого образца (при 10 мг/мл) анализировали способом эксклюзионной хроматографии. Как продемонстрировано на Фиг. 20, ИЛ-2/synTас является стабильным и интактным в течение, по меньшей мере, 5 дней при 4 или 37°C.

Пример 5: ИЛ-2/synTас-опосредованная экспансия человеческих CMV-специфичных CD8⁺ Т-клеток

Мононуклеарные клетки периферической крови (МПК) от доноров-людей были подвергнуты скринингу на реактивность в отношении пула цитомегаловирусных (CMV)

пептидов с использованием точечного иммуноферментного анализа (ELISPOT) на ИФН-гамма. МКПК были классифицированы по количеству образованных точек (SFC - spot forming count) как группы CMV-предшественников высокого, среднего, низкого уровня или не являющиеся таковыми. МКПК из каждой группы стимулировали дозами ИЛ-2/synTас («CUE: ИЛ-2»; synTас, включающий 2 копии вариантного ИЛ-2 MOD, содержащего замены Н16А и F42А) в диапазоне от 30 нМ до 2 нМ. Пятьдесят процентов кондиционированной среды было заменено свежей средой в день 5. На 7 -й день, образцы окрашивали панелью антител и анализировали с помощью проточной цитометрии. Окрашивание пентамером, нацеленное на пептид CMV NLVPMVATV (SEQ ID NO: 37), использовали для определения частоты антиген-специфичных клеток CD8⁺. Данные продемонстрированы на Фиг. 35. Было определено, что ЕС₅₀ ИЛ-2/synTас находится в диапазоне от около 1 нМ до около 5 нМ. Фиг. 35 демонстрирует кратность увеличения количества антиген-специфичных CD8⁺ клеток по сравнению с необработанными контролями. Числовые значения на оси X представляют количество SFC каждой донорной МКПК. Столбики ошибок представляют средние +/- значения СО из технических копий каждой точки данных.

Данные, продемонстрированные на Фиг. 35 указывают на то, что ИЛ-2/synTас эффективен для увеличения числа эпитоп-специфичных CD8⁺ Т-клеток, в случае, когда существует поддающаяся измерению (например, окрашиванием пентамером или SFC) популяция предшественников таких эпитоп-специфичных CD8⁺ Т-клеток.

Пример 6: ИЛ-2/synTас с аминокислотными заменами в Н16.

Варианты ИЛ-2/synTас были получены с заменами в Н16. Были определены уровни экспрессии и аффинность с ИЛ-2Р. Аффинность с ИЛ-2Р определяли с использованием ВLI. Данные продемонстрированы на Фиг. 36.

Пример 7: Эффекты ИЛ-2/synTас на первичные антиген-специфичные CD8⁺ Т-клетки человека.

Вариант ИЛ-2/synTас связывался с первичными CD8⁺ Т-клетками человека. Вариант ИЛ-2/synTас включает в себя: i) Е7 ВПЧ16 (11-20) (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:13) в качестве эпитоп-презентирующего пептида; и ii) 2 копии вариантного ИЛ-2 MOD, содержащего замены Н16А и F42А). Оценивали связывание вариантного ИЛ-2/synTас с CD8⁺ Т-клетками, специфичными к Е7 ВПЧ16 (11-20), или с объемными CD8⁺ Т-клетками. Данные продемонстрированы на Фиг. 37.

Фиг. 37 демонстрирует связывание вариантного ИЛ-2/synTас по данному изобретению с первичными человеческими Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками, как обнаружено с помощью проточной цитометрии. ЕС₅₀ для связывания с

CD8⁺ Т-клетками, специфичными к Е7 ВПЧ16 (11-20), составляла 2, 6 нМ. Таким образом, вариантный ИЛ-2/synТас проявлял высокоаффинное взаимодействие с опухолевыми антигенспецифичными первичными Т-клетками человека. Связывание было высокоселективным для антиген-специфичных Т-клеток по сравнению со связыванием с нецелевыми (общей популяцией) CD8⁺ Т-клетками.

Оценивали влияние связывания вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками человека на фосфорилирование проксимального маркера Т-клеточного рецептора (ТКР) SLP76. Данные продемонстрированы на Фиг. 38.

Фиг. 38 демонстрирует влияние связывания вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками человека на фосфорилирование SLP76. Связывание вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками человека приводило к быстрому увеличению фосфорилирования SLP76. Эффект был сильным ($EC_{50} = 65$ нМ). Эффект был также избирательным, так как контрольный ИЛ-2/synТас, который содержит пептид CMV вместо Е7 ВПЧ16 (11-20), приводил только к низким уровням фосфорилирования SLP76.

Были оценены ключевые маркеры активации Т-клеток и цитолитической активности. Первичные Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичные Т-клетки человека инкубировали в течение 2 дней с 0 нМ или 100 нМ вариантного ИЛ-2/synТас. Вариант ИЛ-2/synТас включает в себя: i) Е7 ВПЧ16 (11-20) в качестве эпитоп-презентирующего пептида; и ii) 2 копии вариантного ИЛ-2 MOD, содержащего замены Н16А и F42А). Оценивали продукцию: i) CD25, маркера активации CD8⁺ Т-клеток; ii) гранзима В, ключевого медиатора гибели целевых клеток через гранул-опосредованный путь; и iii) CD107α, маркера дегрануляции на CD8⁺ Т-клетках. Данные продемонстрированы на Фиг. 39.

Фиг. 39 демонстрирует влияние связывания вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными Т-клетками человека на продукцию CD25, гранзима В и CD107α. Данные показывают, что связывание вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными Т-клетками человека индуцирует дифференцировку Т-клеток в цитолитические эффекторные клетки, о чем свидетельствует повышенная экспрессия CD25, гранзима В, и CD107α.

Был оценен эффект связывания вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками человека на продукцию IFN-γ. Анализ ELISpot был использован для выявления продукции IFN-γ. Данные продемонстрированы на Фиг. 40.

Фиг. 40 демонстрирует влияние связывания вариантного ИЛ-2/synТас с первичными Е7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками человека на продукцию

IFN- γ : Данные показывают, что связывание вариантного ИЛ-2/synTас с первичными E7 ВПЧ16 (11-20) -специфичными CD8⁺ Т-клетками человека приводило к дозозависимой секреции IFN- γ . Никакой продукции IFN- γ не наблюдалось с контрольным ИЛ-2/synTас, который содержит пептид CMV вместо E7 ВПЧ16 (11-20).

Хотя данное изобретение было описано со ссылкой на его конкретные варианты осуществления, специалистам в данной области техники должно быть понятно, что могут быть сделаны различные изменения, и эквиваленты могут быть заменены без отклонения от истинной сущности и объема изобретения. Кроме того, может быть сделано много модификаций для адаптации конкретной ситуации, материала, состава вещества, процесса, этапа или этапов процесса к цели, сущности и объему по данному изобретению. Предполагается, что все такие модификации находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Cue Biopharma, Inc.
Seidel, Ronald D III
Chaparro, Rodolfo J

<120> МУЛЬТИМЕРНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

<130> CUEB-107WO

<160> 100

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His
1				5					10					15	

Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
			20					25					30		

Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
		35					40					45			

Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
	50					55					60				

Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu
65					70					75					80

Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
				85					90					95	

Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		

Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile
		115					120					125			

Ile	Ser	Thr	Leu	Thr
				130

<210> 2

<211> 4

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 2

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 3

<211> 5

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 3

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 4

<211> 5

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 4

Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 5

<211> 5

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 5

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 6

<211> 5

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 6

Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 7

<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 7

Gly Ser Ser Ser Gly
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 8

Gly Ser Ser Ser Ser
1 5

<210> 9
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 10
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 10

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 11
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 11

Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val
1 5

<210> 12
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 12

Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile
1 5

<210> 13
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 13

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr
1 5 10

<210> 14
<211> 276
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 14

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu Pro
275

<210> 15
<211> 274
<212> БЕЛОК
<213> Mus musculus

<400> 15

Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro Arg

35

40

45

Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln Thr
 50 55 60

Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg Thr
 65 70 75 80

Ala Gln Arg Tyr Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe Gln
 85 90 95

Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg Gly
 100 105 110

Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu
 115 120 125

Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg
 130 135 140

Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn
 165 170 175

Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His
 180 185 190

Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe
 195 200 205

Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu
 210 215 220

Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
 225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn
 245 250 255

Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu
 260 265 270

Arg Trp

<210> 16

<211> 99
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 16

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu
1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro
20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys
35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu
50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp
85 90 95

Arg Asp Met

<210> 17
<211> 99
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 17

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Cys His Pro Ala Glu
1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro
20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys
35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu
50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys

65		70		75		80									
Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser	Gln	Pro	Lys	Ile	Val	Lys	Trp	Asp
				85					90					95	
Arg Asp Met															
<210> 18															
<211> 276															
<212> БЕЛОР															
<213> Homo sapiens															
<400> 18															
Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly
1				5					10					15	
Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln
			20					25					30		
Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg
		35					40					45			
Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gly	Glu	Thr
	50					55					60				
Arg	Lys	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln	Thr	His	Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr
65					70					75					80
Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Val	Gln
				85					90					95	
Arg	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Trp	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly
			100					105					110		
Tyr	His	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Lys	Glu
		115					120					125			
Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Met	Ala	Ala	Gln	Thr	Thr	Lys
	130					135					140				
His	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu
145					150					155					160
Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys
				165					170					175	
Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Ala	Pro	Lys	Thr	His	Met	Thr	His	His
			180					185					190		

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu Pro
275

<210> 19
<211> 275
<212> БЕЖОК
<213> Homo sapiens

<400> 19

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu
275

<210> 20

<211> 9

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 20

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 21

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 21

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 22
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 22

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 23
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 23

His His His His His
1 5

<210> 24
<211> 6
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 24

His His His His His His
1 5

<210> 25
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 25

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5

<210> 26
<211> 5
<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 26

Arg Tyr Ile Arg Ser
1 5

<210> 27

<211> 17

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 27

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
1 5 10 15

Ala

<210> 28

<211> 5

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 28

Ala Ala Ala Gly Gly
1 5

<210> 29

<211> 8

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 29

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
1 5

<210> 30

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 30

Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser
1 5

<210> 31

<211> 5

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 31

Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 32

<211> 4

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 32

Leu Val Pro Arg
1

<210> 33

<211> 22

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 33

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 34

<211> 21

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 34

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 35
<211> 23
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 35

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 36
<211> 25
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 36

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 37
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Последовательность синтетического полипептида

<400> 37

Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val
1 5

<210> 38
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<400> 38

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 39
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<400> 39

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35

40

45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 40
 <211> 133
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от глутаминовой кислоты

<400> 40

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Xaa His
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 41
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от гистидина

<400> 41

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 42
<211> 133
<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от тирозина

<400> 42

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Xaa Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 43

<211> 133

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от глутамина

<400> 43

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20

25

30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Xaa Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 44
 <211> 133
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от гистидина

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (42)..(42)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<400> 44

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 45
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<400> 45

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100

105

110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 46
 <211> 133
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от глутаминовой кислоты

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (42)..(42)
 <223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<400> 46

Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Xaa His
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 47
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от гистидина

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<400> 47

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 48
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (126)..(126)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от глутамина

<400> 48

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Xaa Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 49
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от тирозина

<400> 49

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Xaa Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 50
<211> 133
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от гистидина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от тирозина

<400> 50

Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Xaa Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 51

<211> 133

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от тирозина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от глутамина

<400> 51

Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Xaa Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Xaa Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 52

<211> 133

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от гистидина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (20)..(20)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от аспарагиновой кислоты

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от тирозина

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (126)..(126)

<223> Xaa представляет собой аминокислоту отличную от глутамина

<400> 52

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
1 5 10 15

Leu Leu Leu Xaa Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Xaa Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Xaa Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 53

<211> 133

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от гистидина

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (42)..(42)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от фенилаланина

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (126)..(126)
 <223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от глутамина

<400> 53

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Xaa
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Xaa Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Xaa Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 54
 <211> 272
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 54

Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val
 1 5 10 15

Pro	Gly	Cys	Gln	Ala	Glu	Leu	Cys	Asp	Asp	Asp	Pro	Pro	Glu	Ile	Pro	20	25	30	
His	Ala	Thr	Phe	Lys	Ala	Met	Ala	Tyr	Lys	Glu	Gly	Thr	Met	Leu	Asn	35	40	45	
Cys	Glu	Cys	Lys	Arg	Gly	Phe	Arg	Arg	Ile	Lys	Ser	Gly	Ser	Leu	Tyr	50	55	60	
Met	Leu	Cys	Thr	Gly	Asn	Ser	Ser	His	Ser	Ser	Trp	Asp	Asn	Gln	Cys	65	70	75	80
Gln	Cys	Thr	Ser	Ser	Ala	Thr	Arg	Asn	Thr	Thr	Lys	Gln	Val	Thr	Pro	85	90	95	
Gln	Pro	Glu	Glu	Gln	Lys	Glu	Arg	Lys	Thr	Thr	Glu	Met	Gln	Ser	Pro	100	105	110	
Met	Gln	Pro	Val	Asp	Gln	Ala	Ser	Leu	Pro	Gly	His	Cys	Arg	Glu	Pro	115	120	125	
Pro	Pro	Trp	Glu	Asn	Glu	Ala	Thr	Glu	Arg	Ile	Tyr	His	Phe	Val	Val	130	135	140	
Gly	Gln	Met	Val	Tyr	Tyr	Gln	Cys	Val	Gln	Gly	Tyr	Arg	Ala	Leu	His	145	150	155	160
Arg	Gly	Pro	Ala	Glu	Ser	Val	Cys	Lys	Met	Thr	His	Gly	Lys	Thr	Arg	165	170	175	
Trp	Thr	Gln	Pro	Gln	Leu	Ile	Cys	Thr	Gly	Glu	Met	Glu	Thr	Ser	Gln	180	185	190	
Phe	Pro	Gly	Glu	Glu	Lys	Pro	Gln	Ala	Ser	Pro	Glu	Gly	Arg	Pro	Glu	195	200	205	
Ser	Glu	Thr	Ser	Cys	Leu	Val	Thr	Thr	Thr	Asp	Phe	Gln	Ile	Gln	Thr	210	215	220	
Glu	Met	Ala	Ala	Thr	Met	Glu	Thr	Ser	Ile	Phe	Thr	Thr	Glu	Tyr	Gln	225	230	235	240
Val	Ala	Val	Ala	Gly	Cys	Val	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Val	Leu	Leu	Leu	245	250	255	
Ser	Gly	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Arg	Gln	Arg	Lys	Ser	Arg	Arg	Thr	Ile	260	265	270	

<210> 55
 <211> 491
 <212> BEJOK
 <213> Homo sapiens

<400> 55

Met Ala Ala Pro Ala Leu Ser Trp Arg Leu Pro Leu Leu Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Pro Leu Ala Thr Ser Trp Ala Ser Ala Ala Val Asn Gly Thr Ser
 20 25 30

Gln Phe Thr Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp
 35 40 45

Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp
 50 55 60

Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser
 65 70 75 80

Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln
 85 90 95

Lys Leu Thr Thr Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu
 100 105 110

Gly Val Arg Trp Arg Val Met Ala Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln
 115 120 125

Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr
 130 135 140

Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp
 145 150 155 160

Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu
 165 170 175

Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu Ser
 180 185 190

Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys Arg
 195 200 205

Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro Asp
 210 215 220

Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp Val
225 230 235 240

Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser Pro Gly
245 250 255

Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg Asp Lys
260 265 270

Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro Ala Ser
275 280 285

Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln Gly Tyr
290 295 300

Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys Gln Val
305 310 315 320

Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu Gly Val
325 330 335

Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro Leu Ser
340 345 350

Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp Leu Leu
355 360 365

Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser Thr Ala
370 375 380

Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser Leu Gln
385 390 395 400

Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro Pro Thr
405 410 415

Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu Leu Val
420 425 430

Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg Glu Gly
435 440 445

Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe Arg Ala
450 455 460

Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser Leu Gln
465 470 475 480

Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val
485 490

<210> 56
<211> 369
<212> БЕЖОК
<213> Homo sapiens

<400> 56

Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu
1 5 10 15

Pro Leu Leu Gly Val Gly Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly
20 25 30

Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp
35 40 45

Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val
50 55 60

Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro
65 70 75 80

Gln Pro Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn
85 90 95

Asp Lys Val Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr
100 105 110

Ser Gly Cys Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe
115 120 125

Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln
130 135 140

Met Leu Lys Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu
145 150 155 160

Thr Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn
165 170 175

Arg Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp
180 185 190

Trp Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe
195 200 205

Ser Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg
 210 215 220

Ser Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp
 225 230 235 240

Ser His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe
 245 250 255

Leu Phe Ala Leu Glu Ala Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu
 260 265 270

Ile Ile Ser Leu Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro
 275 280 285

Arg Ile Pro Thr Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His
 290 295 300

Gly Asn Phe Ser Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser
 305 310 315 320

Leu Gln Pro Asp Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro
 325 330 335

Pro Lys Gly Gly Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn
 340 345 350

Gln His Ser Pro Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu
 355 360 365

Thr

<210> 57
 <211> 227
 <212> БЕЖОК
 <213> Homo sapiens

<400> 57

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

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

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50

55

60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 58
<211> 325
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 58

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser
1 5 10 15

Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
35 40 45

Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	50	55	60	
Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	65	70	75	80
Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	85	90	95	
Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	100	105	110	
Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	115	120	125	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	130	135	140	
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	145	150	155	160
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	165	170	175	
Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	180	185	190	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	195	200	205	
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	210	215	220	
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	225	230	235	240
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	245	250	255	
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	260	265	270	
Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	275	280	285	
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	290	295	300	

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
305 310 315 320

Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 59
<211> 246
<212> БЕЛОР
<213> Homo sapiens

<400> 59

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Leu Lys Thr
1 5 10 15

Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
20 25 30

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
35 40 45

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
50 55 60

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
65 70 75 80

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
85 90 95

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
100 105 110

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
115 120 125

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
145 150 155 160

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
165 170 175

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
180 185 190

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
195 200 205

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
210 215 220

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
225 230 235 240

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 60
<211> 383
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 60

Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg His
1 5 10 15

Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly Tyr
20 25 30

His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser Gln
35 40 45

Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr Met
50 55 60

Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly Glu
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu Ile
85 90 95

Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr
100 105 110

Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro
115 120 125

Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu
130 135 140

Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys
145 150 155 160

Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val
165 170 175

Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val
180 185 190

Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys
195 200 205

Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn
210 215 220

Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp
225 230 235 240

Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro
245 250 255

Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val
260 265 270

Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala
275 280 285

Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu
290 295 300

Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala
305 310 315 320

Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Arg Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp
325 330 335

Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr
340 345 350

Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser
355 360 365

Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys
370 375 380

<210> 61

<211> 276

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 61

Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glx Ser Asp Trp Leu Gly Glu Ser

1		5		10		15													
Met	Phe	Thr	Cys	Arg	Val	Asp	His	Arg	Gly	Leu	Thr	Phe	Gln	Gln	Asn				
			20					25					30						
Ala	Ser	Ser	Met	Cys	Val	Pro	Asp	Gln	Asp	Thr	Ala	Ile	Arg	Val	Phe				
		35					40					45							
Ala	Ile	Pro	Pro	Ser	Phe	Ala	Ser	Ile	Phe	Leu	Thr	Lys	Ser	Thr	Lys				
	50					55					60								
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Thr	Tyr	Asx	Ser	Val	Thr	Ile				
65					70					75					80				
Ser	Trp	Thr	Arg	Glu	Glu	Asn	Gly	Ala	Val	Lys	Thr	His	Thr	Asn	Ile				
				85					90					95					
Ser	Glu	Ser	His	Pro	Asn	Ala	Thr	Phe	Ser	Ala	Val	Gly	Glu	Ala	Ser				
			100					105					110						
Ile	Cys	Glu	Asp	Asx	Asp	Trp	Ser	Gly	Glu	Arg	Phe	Thr	Cys	Thr	Val				
		115					120						125						
Thr	His	Thr	Asp	Leu	Pro	Ser	Pro	Leu	Lys	Gln	Thr	Ile	Ser	Arg	Pro				
	130					135					140								
Lys	Gly	Val	Ala	Leu	His	Arg	Pro	Asx	Val	Tyr	Leu	Leu	Pro	Pro	Ala				
145					150					155					160				
Arg	Glx	Glx	Leu	Asn	Leu	Arg	Glu	Ser	Ala	Thr	Ile	Thr	Cys	Leu	Val				
				165					170					175					
Thr	Gly	Phe	Ser	Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Val	Glu	Trp	Met	Gln	Arg	Gly				
			180					185					190						
Glu	Pro	Leu	Ser	Pro	Gln	Lys	Tyr	Val	Thr	Ser	Ala	Pro	Met	Pro	Glu				
		195					200					205							
Pro	Gln	Ala	Pro	Gly	Arg	Tyr	Phe	Ala	His	Ser	Ile	Leu	Thr	Val	Ser				
	210					215					220								
Glu	Glu	Glu	Trp	Asn	Thr	Gly	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	Val	Val	Ala	His				
225					230					235					240				
Glu	Ala	Leu	Pro	Asn	Arg	Val	Thr	Glu	Arg	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr				
				245					250					255					
Gly	Lys	Pro	Thr	Leu	Tyr	Asn	Val	Ser	Leu	Val	Met	Ser	Asp	Thr	Ala				

260

265

270

Gly Thr Cys Tyr
275

<210> 62

<211> 353

<212> BEJOK

<213> Homo sapiens

<400> 62

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr
1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65 70 75 80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser
115 120 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn
130 135 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe
145 150 155 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu
165 170 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys
180 185 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr
195 200 205

Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn
210 215 220

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu
225 230 235 240

Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser
245 250 255

Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro
260 265 270

Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly
275 280 285

Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp
290 295 300

Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu
305 310 315 320

Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro
325 330 335

Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys
340 345 350

Tyr

<210> 63
<211> 222
<212> BEJIOK
<213> Homo sapiens

<400> 63

Ala Asp Pro Cys Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser
1 5 10 15

Arg Pro Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr
20 25 30

Cys Leu Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr
35 40 45

Trp Ser Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu
50 55 60

Glu Lys Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val
65 70 75 80

Gly Thr Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr
85 90 95

His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser
100 105 110

Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp
115 120 125

Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe
130 135 140

Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu
145 150 155 160

Pro Asp Ala Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser
165 170 175

Gly Phe Phe Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu
180 185 190

Gln Lys Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro
195 200 205

Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 64
<211> 327
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 64

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr		
65					70					75					80		
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys		
				85					90					95			
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro		
			100					105					110				
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys		
		115					120					125					
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val		
	130					135					140						
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp		
145					150					155					160		
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe		
				165					170					175			
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp		
			180					185					190				
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu		
		195					200					205					
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg		
	210					215					220						
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys		
225					230					235					240		
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp		
				245					250					255			
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys		
			260					265					270				
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser		
		275					280					285					
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser		
	290					295					300						
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser		
305					310					315					320		

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 65

<211> 365

<212> БЕЖОК

<213> Homo sapiens

<400> 65

Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Gly Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
20 25 30

Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Gln Lys Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Met Lys Ala His Ser Gln
85 90 95

Thr Asp Arg Ala Asn Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala
165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr

210

215

220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
 225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
 245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
 260 265 270

Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
 275 280 285

Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Leu Ser Ser Gln Pro
 290 295 300

Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala
 305 310 315 320

Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Lys Ser
 325 330 335

Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Thr Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser
 340 345 350

Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala Cys Lys Val
 355 360 365

<210> 66

<211> 362

<212> BEJOK

<213> Homo sapiens

<400> 66

Met Leu Val Met Ala Pro Arg Thr Val Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30

Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
 35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
 50 55 60

Ala Ser Pro Arg Glu Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80

Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asn	Thr	Gln	Ile	Tyr	Lys	Ala	Gln	Ala	Gln	
				85					90					95		
Thr	Asp	Arg	Glu	Ser	Leu	Arg	Asn	Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser	
			100					105					110			
Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Leu	Gln	Ser	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	
		115					120					125				
Pro	Asp	Gly	Arg	Leu	Leu	Arg	Gly	His	Asp	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly	
	130					135					140					
Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu	Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	
145					150					155					160	
Asp	Thr	Ala	Ala	Gln	Ile	Thr	Gln	Arg	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	Arg	Glu	
				165					170					175		
Ala	Glu	Gln	Arg	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Glu	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	
			180					185					190			
Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Asp	Lys	Leu	Glu	Arg	Ala	Asp	Pro	
		195					200					205				
Pro	Lys	Thr	His	Val	Thr	His	His	Pro	Ile	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	
	210					215					220					
Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	
225					230					235					240	
Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	
				245					250					255		
Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Arg	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	
			260					265					270			
Val	Pro	Ser	Gly	Glu	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	
		275					280					285				
Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Ser	Ser	Gln	Ser	
	290					295					300					
Thr	Val	Pro	Ile	Val	Gly	Ile	Val	Ala	Gly	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Val	
305					310					315					320	
Val	Val	Ile	Gly	Ala	Val	Val	Ala	Ala	Val	Met	Cys	Arg	Arg	Lys	Ser	
				325					330					335		

Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asp Ser
340 345 350

Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala
355 360

<210> 67

<211> 366

<212> БЕЛОР

<213> Homo sapiens

<400> 67

Met Arg Val Met Ala Pro Arg Ala Leu Leu Leu Leu Ser Gly Gly
1 5 10 15

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

Asp Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Pro Arg Gly Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Gln Asn Tyr Lys Arg Gln Ala Gln
85 90 95

Ala Asp Arg Val Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Asp Gly Ser His Thr Leu Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Leu Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Asp Gln Ser Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Leu Glu Ala Ala Arg Ala
165 170 175

Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Ala Glu Pro
195 200 205

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

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
260 265 270

Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Met Gln His Glu
275 280 285

Gly Leu Gln Glu Pro Leu Thr Leu Ser Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro
290 295 300

Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Val Val
305 310 315 320

Leu Ala Val Leu Gly Ala Val Val Thr Ala Met Met Cys Arg Arg Lys
325 330 335

Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Cys Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asn
340 345 350

Ser Ala Gln Gly Ser Asp Glu Ser Leu Ile Thr Cys Lys Ala
355 360 365

<210> 68
<211> 833
<212> БЕЛЮК
<213> Homo sapiens

<400> 68

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	50	55	60	
Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	65	70	75	80
Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	85	90	95	
Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	100	105	110	
Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	115	120	125	
Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	130	135	140	
Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	145	150	155	160
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	165	170	175	
Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Leu	180	185	190	
Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	195	200	205	
Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	210	215	220	
Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	225	230	235	240
Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	245	250	255	
Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	260	265	270	
Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	275	280	285	
Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	290	295	300	

Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
 325 330 335

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
 340 345 350

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
 355 360 365

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
 370 375 380

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
 385 390 395 400

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
 405 410 415

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
 420 425 430

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
 435 440 445

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
 450 455 460

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
 465 470 475 480

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
 485 490 495

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
 500 505 510

Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
 515 520 525

Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
 530 535 540

Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
 545 550 555 560

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
 565 570 575

Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
 580 585 590

Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys
 595 600 605

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 610 615 620

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 625 630 635 640

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 645 650 655

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 660 665 670

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val
 675 680 685

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 690 695 700

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 705 710 715 720

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 725 730 735

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 740 745 750

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 755 760 765

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 770 775 780

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 785 790 795 800

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 805 810 815

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
820 825 830

Lys

<210> 69
<211> 813
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 69

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
145 150 155 160

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
165 170 175

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
180 185 190

Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His

195

200

205

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
 210 215 220

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
 225 230 235 240

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
 245 250 255

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
 260 265 270

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
 275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 290 295 300

Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg
 305 310 315 320

Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp
 325 330 335

Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu
 340 345 350

Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly
 355 360 365

Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu
 370 375 380

Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr
 385 390 395 400

Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu
 405 410 415

Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu
 420 425 430

Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr
 435 440 445

Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala

450																	
Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn		
465					470					475					480		
Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Ala	Pro	Lys	Thr	His	Met	Thr		
				485					490					495			
His	His	Ala	Val	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu		
			500					505					510				
Ser	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu		
		515					520					525					
Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Cys	Gly	Asp		
	530					535					540						
Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Ser	Gly	Gln	Glu		
545					550					555					560		
Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu		
				565					570					575			
Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys		
			580					585					590				
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu		
		595					600					605					
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu		
	610					615					620						
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys		
625					630					635					640		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys		
				645					650					655			
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu		
			660					665					670				
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys		
		675					680					685					
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys		
	690					695					700						
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		

705 710 715 720

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
725 730 735

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
740 745 750

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
755 760 765

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
770 775 780

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
785 790 795 800

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
805 810

<210> 70
<211> 2505
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 70
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatc gcactaagtc ttgcacttgt cacaacagct 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcatt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180
acagcaaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta 300
agaccaggga acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgactg gaggcggagg atctggtggt 480
ggaggttctg gtggtggggg atctggaggc ggaggatctg cacctacttc aagttctaca 540
aagaaaacac agctacaact ggaggcatta ctgctggatt tacagatgat tttgaatgga 600
attaataatt acaagaatcc caaactcacc aggatgctca cagcaaagtt ttacatgccc 660
aagaaggcca cagaactgaa acatcttcag tgtctagaag aagaactcaa acctctggag 720
gaagtgctaa atttagctca aagcaaaaac tttcacttaa gaccaggga cttaatcagc 780
aatatcaacg taatagttct ggaactaaag ggatctgaaa caacattcat gtgtgaatat 840
gctgatgaga cagcaaccat tgtagaattt ctgaacagat ggattacctt ttgtcaaage 900
atcatctcaa cactgactgg aggcggagga tctggtggtg gaggttctgg tgggtggggga 960

tctggaggcg gaggatctgg ctctcactcc atgaggtatt tcttcacatc cgtgtcccg	1020
cccgcccgcg gggagccccg cttcatcgca gtgggctacg tggacgacac gcagttcgtg	1080
cggttcgaca gcgacgccgc gagccagagg atggagccgc gggcgccgtg gatagagcag	1140
gaggggtccgg agtattggga cggggagaca cggaagtga agggccactc acagactcac	1200
cgagtggacc tggggaccct gcgcggcgcc tacaaccaga gcgaggccgg ttctcacacc	1260
gtccagagga tgtatggctg cgacgtgggg tcggactggc gcttcctcgc cgggtaccac	1320
cagtacgcct acgacggcaa ggattacatc gccctgaaag aggacctgcg ctcttggacc	1380
gcggcgga ca tggcagctca gaccaccaag cacaagtggg aggcggccca tgtggcgag	1440
cagttgagag cctacctgga gggcacgtgc gtggagtggc tccgcagata cctggagaac	1500
gggaaggaga cgctgcagcg cacggacgcc cccaaaacgc atatgactca ccacgctgtc	1560
tctgaccatg aagccaccct gaggtgctgg gccctgagct tctaccctgc ggagatcaca	1620
ctgacctggc agcgggatgg ggaggaccag acccaggaca cggagctcgt ggagaccagg	1680
ccttgccggg atggaacctt ccagaagtgg gcggctgtgg tgggtgccttc tggacaggag	1740
cagagataca cctgccatgt gcagcatgag ggtttgccca agccctcac cctgagatgg	1800
gaggcagctg cgggtggcga caaaactcac acatgccac cgtgccagc acctgaactc	1860
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc	1920
cggacctctg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag	1980
ttcaactgg acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcc agacaaagcc gcgggaggag	2040
cagtacgcaa gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tctgcacca ggactggctg	2100
aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa	2160
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc	2220
cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc	2280
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag	2340
cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag	2400
agcagatggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcacgaggc tctgcacaac	2460
cactacacgc agaagtccct ctccctgtct ccgggtaaat agtga	2505

<210> 71
 <211> 833
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 71

Met	Tyr	Arg	Met	Gln	Leu	Leu	Ser	Cys	Ile	Ala	Leu	Ser	Leu	Ala	Leu
1				5					10					15	

Val	Thr	Asn	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	20	25	30	
Gln	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	35	40	45	
Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	50	55	60	
Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	65	70	75	80
Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	85	90	95	
Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	100	105	110	
Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	115	120	125	
Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	130	135	140	
Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	145	150	155	160
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	165	170	175	
Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Leu	180	185	190	
Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	195	200	205	
Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	210	215	220	
Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	225	230	235	240
Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	245	250	255	
Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	260	265	270	

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
275 280 285

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr
290 295 300

Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
325 330 335

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
340 345 350

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
355 360 365

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
370 375 380

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
385 390 395 400

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
405 410 415

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
420 425 430

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
435 440 445

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
450 455 460

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
465 470 475 480

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
485 490 495

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
500 505 510

Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
515 520 525

Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
530 535 540

Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
545 550 555 560

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
565 570 575

Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
580 585 590

Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys
595 600 605

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
610 615 620

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
625 630 635 640

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
645 650 655

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
660 665 670

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
675 680 685

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
690 695 700

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
705 710 715 720

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
725 730 735

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
740 745 750

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
755 760 765

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
770 775 780

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
785 790 795 800

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
805 810 815

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
820 825 830

Lys

<210> 72
<211> 813
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 72

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
145 150 155 160

Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	165	170	175
Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	180	185	190
Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	195	200	205
Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	210	215	220
Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	225	230	235
Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	245	250	255
Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	260	265	270
Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Gly	275	280	285
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	290	295	300
Gly	Ser	Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	305	310	315
Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	325	330	335
Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	340	345	350
Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gly	355	360	365
Glu	Thr	Arg	Lys	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln	Thr	His	Arg	Val	Asp	Leu	370	375	380
Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Ala	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	385	390	395
Val	Gln	Arg	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Trp	Arg	Phe	Leu	405	410	415

Arg	Gly	Tyr	His	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	420	425	430	
Lys	Glu	Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Met	Ala	Ala	Gln	Thr	435	440	445	
Thr	Lys	His	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	450	455	460	
Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	465	470	475	480
Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Ala	Pro	Lys	Thr	His	Met	Thr	485	490	495	
His	His	Ala	Val	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	500	505	510	
Ser	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	515	520	525	
Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Cys	Gly	Asp	530	535	540	
Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Ser	Gly	Gln	Glu	545	550	555	560
Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	565	570	575	
Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	580	585	590	
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	595	600	605	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	610	615	620	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	625	630	635	640
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	645	650	655	
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	660	665	670	

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
675 680 685

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
690 695 700

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
705 710 715 720

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
725 730 735

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
740 745 750

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
755 760 765

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
770 775 780

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
785 790 795 800

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
805 810

<210> 73
<211> 2505
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 73
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcatt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180
acagcaaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta 300
agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420
tggattacct tttgtcaaag catcatctca aactgactg gaggcggagg atctgggtgt 480
ggaggttctg gtggtggggg atctggaggc ggaggatctg cacctacttc aagttctaca 540
aagaaaacac agctacaact ggaggcatta ctgctggatt tacagatgat tttgaatgga 600
attaataatt acaagaatcc caaactcacc aggatgctca cagcaaagtt ttacatgccc 660

aagaaggcca	cagaactgaa	acatcttcag	tgtctagaag	aagaactcaa	acctctggag	720
gaagtgctaa	atttagctca	aagcaaaaac	tttcaactta	gaccagggga	cttaatcagc	780
aatatcaacg	taatagttct	ggaactaaag	ggatctgaaa	caacattcat	gtgtgaatat	840
gctgatgaga	cagcaaccat	tgtagaatth	ctgaacagat	ggattacctt	ttgtcaaagc	900
atcatctcaa	cactgactgg	aggcggagga	tctggtggtg	gaggttctgg	tggtggggga	960
tctggaggcg	gaggatctgg	ctctcactcc	atgaggtatt	tcttcacatc	cgtgtcccg	1020
cccggcccg	gggagccccg	cttcacgca	gtgggctacg	tggacgacac	gcagttcgtg	1080
cggttcgaca	gcgacgccgc	gagccagagg	atggagccgc	gggcgccgtg	gatagagcag	1140
gaggggtccg	agtattggga	cggggagaca	cggaaagtga	aggccactc	acagactcac	1200
cgagtggacc	tggggaccct	gcgcggcgcc	tacaaccaga	gcgaggccgg	ttctcacacc	1260
gtccagagga	tgtatggctg	cgacgtgggg	tcggactggc	gcttcctcgg	cgggtaccac	1320
cagtacgcct	acgacggcaa	ggattacatc	gccctgaaag	aggacctgcg	ctcttggacc	1380
gcggcggaca	tggcagctca	gaccaccaag	cacaagtggg	aggcggccca	tgtggcggag	1440
cagttgagag	cctacctgga	gggcacgtgc	gtggagtggc	tccgcagata	cctggagaac	1500
gggaaggaga	cgctgcagcg	cacggacgcc	ccaaaacgc	atatgactca	ccacgctgtc	1560
tctgaccatg	aagccaccct	gaggtgctgg	gccctgagct	tctaccctgc	ggagatcaca	1620
ctgacctggc	agcgggatgg	ggaggaccag	accaggaca	cggagctcgt	ggagaccagg	1680
ccttgccggg	atggaacctt	ccagaagtgg	gcggctgtgg	tggtgccttc	tggacaggag	1740
cagagataca	cctgccatgt	gcagcatgag	ggtttgccca	agccctcac	cctgagatgg	1800
gaggcagctg	cgggtggcga	caaaactcac	acatgcccac	cgtgcccagc	acctgaagcc	1860
gccgggggac	cgtcagtctt	cctcttcccc	ccaaaacca	aggacaccct	catgatctcc	1920
cggacccttg	aggtcacatg	cgtggtggtg	gacgtgagcc	acgaagacc	tgaggtcaag	1980
ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggaggtg	cataatgcc	agacaaagcc	gcgggaggag	2040
cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	gtcctcaccg	tctgcacca	ggactggctg	2100
aatggcaagg	agtacaagtg	caaggtctcc	aacaaagccc	tcccagcccc	catcgagaaa	2160
accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	gaaccacagg	tgtacaccct	gccccatcc	2220
cgggaggaga	tgaccaagaa	ccaggtcagc	ctgacctgcc	tggtcaaagg	cttctatccc	2280
agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	2340
cctcccgtgc	tggactccga	cggctccttc	ttcctctaca	gcaagctcac	cgtggacaag	2400
agcagatggc	agcaggggaa	cgtcttctca	tgctccgtga	tgcacgaggc	tctgcacaac	2460
cactacacgc	agaagtccct	ctccctgtct	ccgggtaaat	agtga		2505

<211> 833
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 74

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
20 25 30

Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe
50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr
165 170 175

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu
180 185 190

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
195 200 205

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr
210 215 220

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
225 230 235 240

Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
 245 250 255

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
 260 265 270

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
 275 280 285

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr
 290 295 300

Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
 325 330 335

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
 340 345 350

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
 355 360 365

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
 370 375 380

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
 385 390 395 400

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
 405 410 415

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
 420 425 430

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
 435 440 445

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
 450 455 460

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
 465 470 475 480

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
 485 490 495

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
500 505 510

Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
515 520 525

Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
530 535 540

Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
545 550 555 560

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
565 570 575

Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
580 585 590

Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys
595 600 605

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro
610 615 620

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
625 630 635 640

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
645 650 655

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
660 665 670

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
675 680 685

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
690 695 700

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
705 710 715 720

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
725 730 735

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
740 745 750

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
755 760 765

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
770 775 780

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
785 790 795 800

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
805 810 815

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
820 825 830

Lys

<210> 75
<211> 813
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 75

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr
145 150 155 160

Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met
165 170 175

Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met
180 185 190

Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His
195 200 205

Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn
210 215 220

Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser
225 230 235 240

Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe
245 250 255

Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
260 265 270

Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly
275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg
305 310 315 320

Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp
325 330 335

Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu
340 345 350

Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly
355 360 365

Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu
370 375 380

Gly Thr Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr
385 390 395 400

Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu
405 410 415

Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu
420 425 430

Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr
435 440 445

Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala
450 455 460

Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn
465 470 475 480

Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr
485 490 495

His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu
500 505 510

Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu
515 520 525

Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp
530 535 540

Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu
545 550 555 560

Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu
565 570 575

Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys
580 585 590

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
595 600 605

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
610 615 620

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
625 630 635 640

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
645 650 655

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
660 665 670

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
675 680 685

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
690 695 700

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
705 710 715 720

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
725 730 735

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
740 745 750

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
755 760 765

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
770 775 780

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
785 790 795 800

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
805 810

<210> 76
<211> 2505
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 76
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggaggcatt actgctggat 120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 180
acagcaaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 300
agaccaggga acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 420

tggattacct	tttgtcaaag	catcatctca	acactgactg	gaggcggagg	atctggtggt	480
ggaggttctg	gtggtggggg	atctggaggc	ggaggatctg	cacctacttc	aagttctaca	540
aagaaaacac	agctacaact	ggaggcatta	ctgctggatt	tacagatgat	tttgaatgga	600
attaataatt	acaagaatcc	caaactcacc	aggatgctca	cagcaaagtt	ttacatgccc	660
aagaaggcca	cagaactgaa	acatcttcag	tgtctagaag	aagaactcaa	acctctggag	720
gaagtgctaa	atthagctca	aagcaaaaac	tttcacttaa	gaccagggga	cttaatcagc	780
aatatcaacg	taatagttct	ggaactaaag	ggatctgaaa	caacattcat	gtgtgaatat	840
gctgatgaga	cagcaaccat	tgtagaatth	ctgaacagat	ggattacctt	ttgtcaaagc	900
atcatctcaa	cactgactgg	aggcggagga	tctggtggtg	gaggttctgg	tgggtggggga	960
tctggaggcg	gaggatctgg	ctctcactcc	atgaggtatt	tcttcacatc	cgtgtcccgg	1020
cccggcccg	gggagccccg	cttcatcgca	gtgggctacg	tggacgacac	gcagttcgtg	1080
cggttcgaca	gcgacgccgc	gagccagagg	atggagccgc	gggcgccgtg	gatagagcag	1140
gagggtcagg	agtattggga	cggggagaca	cggaaagtga	aggccactc	acagactcac	1200
cgagtggacc	tggggaccct	gcgggcgcc	tacaaccaga	gcgaggccgg	ttctcacacc	1260
gtccagagga	tgtatggctg	cgacgtgggg	tggactggc	gcttctctcg	cggttaccac	1320
cagtacgcct	acgacggcaa	ggattacatc	gccctgaaag	aggacctgcg	ctcttggacc	1380
gcggcgga	tggcagctca	gaccaccaag	cacaagtggg	aggcgccca	tgtggcgagg	1440
cagttgagag	cctacctgga	gggcacgtgc	gtggagtggc	tccgcagata	cctggagaac	1500
gggaaggaga	cgctgcagcg	cacggacgcc	ccaaaacgc	atatgactca	ccacgtgtc	1560
tctgaccatg	aagccaccct	gaggtgctgg	gccctgagct	tctaccctgc	ggagatcaca	1620
ctgacctggc	agcgggatgg	ggaggaccag	accagagaca	cggagctcgt	ggagaccagg	1680
ccttgccggg	atggaacctt	ccagaagtgg	gcggctgtgg	tgggtgcctt	tggacaggag	1740
cagagataca	cctgccatgt	gcagcatgag	ggtttgccc	agccctcac	cctgagatgg	1800
gaggcagctg	cgggtggcga	caaaactcac	acatgcccac	cgtgcccagc	acctgaattc	1860
gaggggggac	cgtcagtctt	cctcttcccc	ccaaaaccca	aggacaccct	catgatctcc	1920
cggacccttg	aggtcacatg	cgtggtggtg	gacgtgagcc	acgaagacct	tgaggtcaag	1980
ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggaggtg	cataatgcca	agacaaagcc	gcgggaggag	2040
cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	2100
aatggcaagg	agtacaagtg	caaggtctcc	aacaaagccc	tcccagccag	catcgagaaa	2160
accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	gaaccacagg	tgtacaccct	gccccatcc	2220
cgggaggaga	tgaccaagaa	ccaggtcagc	ctgacctgcc	tgggtcaaagg	cttctatccc	2280
agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	2340

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag	2400
agcagatggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcacgaggc tctgcacaac	2460
cactacacgc agaagtcctt ctcctgtctt cgggtaaat agtga	2505

<210> 77
 <211> 144
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Последовательность синтетического полипептида

 <400> 77

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser	
1 5 10 15	

Gly Leu Glu Ala Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Gly Gly	
20 25 30	

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg	
35 40 45	

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

Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile	
65 70 75 80	

Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His	
85 90 95	

Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr	
100 105 110	

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn	
115 120 125	

His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met	
130 135 140	

<210> 78
 <211> 248
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Последовательность синтетического полипептида

 <400> 78

Tyr 1	Met	Leu	Asp	Leu 5	Gln	Pro	Glu	Thr	Thr 10	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 15	Gly
Gly	Gly	Gly	Ser 20	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 25	Ile	Gln	Tyr	Met	Leu 30	Asp	Leu
Gln	Pro	Glu 35	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
Gly	Gly 50	Gly	Ser	Ile	Gln	Arg 55	Thr	Pro	Lys	Ile	Gln 60	Val	Tyr	Ser	Cys
His 65	Pro	Ala	Glu	Asn 70	Gly	Lys	Ser	Asn	Phe	Leu 75	Asn	Cys	Tyr	Val	Ser
Gly	Phe	His	Pro	Ser 85	Asp	Ile	Glu	Val	Asp 90	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly 95	Glu
Arg	Ile	Glu	Lys 100	Val	Glu	His	Ser	Asp 105	Leu	Ser	Phe	Ser	Lys 110	Asp	Trp
Ser	Phe	Tyr 115	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu 120	Phe	Thr	Pro	Thr 125	Glu	Lys	Asp
Glu	Tyr 130	Ala	Cys	Arg	Val	Asn 135	His	Val	Thr	Leu	Ser 140	Gln	Pro	Lys	Ile
Val 145	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp 150	Met	Arg	Thr	Pro	Lys 155	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser 160
Cys	His	Pro	Ala	Glu 165	Asn	Gly	Lys	Ser	Asn 170	Phe	Leu	Asn	Cys	Tyr 175	Val
Ser	Gly	Phe	His 180	Pro	Ser	Asp	Ile	Glu 185	Val	Asp	Leu	Leu	Lys 190	Asn	Gly
Glu	Arg	Ile	Glu 195	Lys	Val	Glu	His	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe 205	Ser	Lys	Asp
Trp	Ser 210	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr 215	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr 220	Pro	Thr	Glu	Lys
Asp 225	Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg 230	Val	Asn	His	Val	Thr 235	Leu	Ser	Gln	Pro	Lys 240
Ile	Val	Lys	Trp	Asp 245	Arg	Asp	Met								

<210> 79
 <211> 438
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательность синтетического полинуклеотида

<400> 79
 atgtctcgct ccgtggcctt agctgtgctc gcgctactct ctctttctgg cctggaggcc 60
 tacatgctcg atttcgagcc cgaaacgacg ggtggagggtg gttctggagg aggcgggttcg 120
 ggcggagggtg gtagtatcca gcgtactcca aagattcagg ttctactcatg ccatccagca 180
 gagaatggaa agtcaaattt cctgaattgc tatgtgtctg ggtttcatcc atccgacatt 240
 gaagttgact tactgaagaa tggagagaga attgaaaaag tggagcattc agacttgtct 300
 ttcagcaagg actggtcttt ctatctcttg tattatactg aattcacccc cactgaaaaa 360
 gatgagtatg cctgccgtgt gaaccacgtg actttgtcac agcccaagat agttaagtgg 420
 gatcgagaca tgtagtga 438

<210> 80
 <211> 227
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

<400> 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 81
<211> 227
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
 225

<210> 82
 <211> 227
 <212> BEJOK
 <213> Homo sapiens
 <400> 82

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

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

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

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

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

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

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

				100				105				110			
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		115				120						125			
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
		130				135						140			
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
145				150						155				160	
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
				165				170						175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
		180						185				190			
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
		195				200						205			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
		210				215						220			
Pro	Gly	Lys													
225															
<210>		83													
<211>		227													
<212>		BEJOK													
<213>		Homo sapiens													
<400>		83													
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
1			5						10				15		
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
		20						25				30			
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
		35				40						45			
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
		50				55						60			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65				70						75				80	
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				85				90						95	

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 84
<211> 133
<212> БЕЖОК
<213> Homo sapiens

<400> 84

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 85
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 85

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 86
<211> 4
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 86

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 87
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 87

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr
1 5

<210> 88
<211> 4
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 88

Phe His His Thr
1

<210> 89
<211> 15
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 89

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

<210> 90
<211> 20
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 90

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> 91
<211> 25
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 91

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 92
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 92

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

<210> 93
<211> 20
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 93

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

Ser Ser Ser Ser
20

<210> 94
<211> 25
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<400> 94

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

Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser
20 25

<210> 95
<211> 119
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 95

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 96
<211> 119
<212> БЕЖОК
<213> Pan troglodytes

<400> 96

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 97
<211> 119
<212> БЕЖОК
<213> Macaca mulatta

<400> 97

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Lys Met Gly Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Asn Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gly Pro Arg Thr
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 98

<211> 118

<212> BEJOK

<213> Bos Taurus

<400> 98

Met Ala Arg Phe Val Ala Leu Val Leu Leu Gly Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Asp Ala Ile Gln Arg Pro Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asp Gly Lys Pro Asn Tyr Leu Asn Cys Tyr Val Tyr
35 40 45

Gly Phe His Pro Pro Gln Ile Glu Ile Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Lys Ile Lys Ser Glu Gln Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser
65 70 75 80

Phe Tyr Leu Leu Ser His Ala Glu Phe Thr Pro Asn Ser Lys Asp Gln
85 90 95

Tyr Ser Cys Arg Val Lys His Val Thr Leu Glu Gln Pro Arg Ile Val
100 105 110

Lys Trp Asp Arg Asp Leu
115

<210> 99
<211> 119
<212> БЕЛОК
<213> Mus musculus

<400> 99

Met Ala Arg Ser Val Thr Leu Val Phe Leu Val Leu Val Ser Leu Thr
1 5 10 15

Gly Leu Tyr Ala Ile Gln Lys Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr
35 40 45

Gln Phe His Pro Pro His Ile Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys
50 55 60

Lys Ile Pro Lys Val Glu Met Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp
85 90 95

Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr
100 105 110

Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 100
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая последовательность

<220>
<221> Misc_Feature
<222> (4)..(4)
<223> Хаа представляет собой аминокислоту отличную от пролина
<400> 100

Val	Pro	Gly	Xaa	Gly
1				5

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности, по меньшей мере, 85%, указанной в SEQ ID NO:1,

причем указанный вариантный ИЛ-2 полипептид имеет одну или несколько аминокислотных замен относительно последовательности, представленной в SEQ. ID NO:1, и

при этом указанный вариантный ИЛ-2 полипептид проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором ИЛ-2 (ИЛ-2Р), содержащим полипептиды альфа, бета и гамма, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на Фиг. 3А-3С, по сравнению с аффинностью связывания аминокислотной последовательности ИЛ-2, указанной в одной из SEQ ID NO:1, с ИЛ-2Р.

2. Вариантный ИЛ-2 полипептид по п. 1, отличающийся тем, что указанный вариант включает замену одной или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

3. Вариантный ИЛ-2 полипептид по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанный вариантный иммуномодуляторный полипептид демонстрирует от менее чем 10% до менее чем 50% аффинности связывания, демонстрируемой аминокислотной последовательностью ИЛ-2, указанной в SEQ ID NO:1, с ИЛ-2Р.

4. Вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный вариант включает замены F42 на Ala, Gly, Val, Ile или Leu.

5. Вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный вариант включает замены F42 и D20 или замены F42 и H16.

6. Вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный вариант включает замены F42, D20 и Y45; или отличающийся тем, что указанный вариант включает замены F42, H16 и Q126.

7. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп;

ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); а

также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) второй полипептид ГКГС; а также

ii) необязательно Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

при этом указанный мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих доменов, причем указанные один или несколько иммуномодулирующих доменов находятся:

- A) на С-конце первого полипептида;
- B) на N-конце второго полипептида;
- C) на С-конце второго полипептида; или же
- D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида, и

причем, по меньшей мере, один из иммуномодулирующих доменов представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и причем указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к партнерскому костимуляторному белку.

8. Мультимерный полипептид, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); а

также

b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

- i) второй полипептид ГКГС; а также
- ii) необязательно, Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

при этом указанный мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих доменов, причем указанные один или несколько иммуномодулирующих доменов находятся:

- A) на С-конце первого полипептида;
- B) на N-конце второго полипептида;
- C) на С-конце второго полипептида; или же
- D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида,

при этом, по меньшей мере, один из указанных одного или нескольких иммуномодулирующих доменов представляют собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-6, и

при этом указанный мультимерный полипептид проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором ИЛ-2 (ИЛ-2R), содержащим полипептиды альфа, бета и гамма, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на Фиг. 3А-3С, по сравнению с аффинностью связывания контрольного мультимерного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность ИЛ-2, приведенную в SEQ ID NO:1, с

ИЛ-2Р полипептидом.

9. Мультимерный полипептид по п. 8, отличающийся тем, что:

а) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный эпитоп;
- ii) указанный первый полипептид ГКГС; а также
- iii) указанный вариантный ИЛ-2 полипептид; а также

б) указанный второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный второй полипептид ГКГС; а также
- ii) указанный Fc-полипептид Ig.

10. Мультимерный полипептид по п. 8, отличающийся тем, что:

а) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный эпитоп; а также
- ii) указанный первый полипептид ГКГС; а также

б) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный вариантный ИЛ-2 полипептид;
- ii) указанный второй полипептид ГКГС; а также
- iii) указанный Fc-полипептид Ig.

11. Мультимерный полипептид по п. 8, отличающийся тем, что:

а) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный эпитоп; а также
- ii) указанный первый полипептид ГКГС; а также

б) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный второй полипептид ГКГС; а также
- ii) указанный вариантный ИЛ-2 полипептид.

12. Мультимерный полипептид по п. 8, отличающийся тем, что:

а) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный эпитоп; а также
- ii) указанный первый полипептид ГКГС; а также

б) второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

- i) указанный вариантный ИЛ-2 полипептид; а также
- ii) указанный второй полипептид ГКГС.

13. Мультимерный полипептид по п. 8, отличающийся тем, что:

а) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) указанный эпитоп;
- ii) указанный первый полипептид ГКГС; а также

iii) указанный вариантный ИЛ-2 полипептид; а также

b) указанный второй полипептид содержит второй полипептид ГКГС.

14. Мультимерный полипептид по п. 7 или 8, отличающийся тем, что не-Ig каркас представляет собой полипептид ХТЕН, полипептид трансферрина, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид или шелкоподобно-эластиноподобный полипептид.

15. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-14, отличающийся тем, что первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и отличающийся тем, что второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

16. Мультимерный полипептид по п. 15, отличающийся тем, что указанный полипептид β 2-микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, обладающую, по меньшей мере, 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на Фиг. 6.

17. Мультимерный полипептид по п. 15, отличающийся тем, что указанный полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь ЧЛА-А (человеческий лейкоцитарный антиген-А), ЧЛА-В или ЧЛА-С.

18. Мультимерный полипептид по п. 15, отличающийся тем, что указанный полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной на одной из Фиг. 5А-5С.

19. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-14, отличающийся тем, что указанный первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и отличающийся тем, что указанный второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

20. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-19, отличающийся тем, что указанный эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

21. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-13 и 15-20, отличающийся тем, что указанный мультимерный полипептид содержит Fc-полипептид, и отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид Ig представляет собой Fc-полипептид IgG1, Fc-полипептид IgG2, Fc-полипептид IgG3, Fc-полипептид IgG4, Fc-полипептид IgA или Fc-полипептид IgM.

22. Мультимерный полипептид по п. 21, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей

мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 4А-4С.

23. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-22, отличающийся тем, что указанный первый полипептид и указанный второй полипептид нековалентно связаны.

24. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-22, отличающийся тем, что указанный первый полипептид и указанный второй полипептид ковалентно связаны друг с другом.

25. Мультимерный полипептид по п. 24, отличающийся тем, что указанная ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь.

26. Мультимерный полипептид по п. 25, отличающийся тем, что указанный первый полипептид ГКГС или линкер между указанным эпитопом и указанным первым полипептидом ГКГС содержит аминокислотную замену для обеспечения первого остатка Cys, и указанный второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для обеспечения второго остатка Cys и при этом указанная дисульфидная связь находится между первым и вторым остатками Cys.

27. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-26, содержащий линкер, вставленный между указанным эпитопом и указанным первым полипептидом ГКГС.

28. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-26, включающий линкер, вставленный между указанным полипептидом ГКГС и указанным иммуномодуляторным полипептидом.

29. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-28, содержащий 2 вариантных ИЛ-2 полипептида.

30. Мультимерный полипептид по любому из пп. 7-28, содержащий 3 вариантных ИЛ-2 полипептида.

31. Мультимерный полипептид по п. 29 или п. 30, отличающийся тем, что указанные 2 или 3 вариантных ИЛ-2 полипептида находятся в тандеме, и при этом указанный мультимерный полипептид содержит линкер между указанными вариантными ИЛ-2 полипептидами.

32. Мультимерный полипептид по любому из пп. 8-28, отличающийся тем, что указанный вариантный ИЛ-2 содержит замену одной или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

33. Мультимерный полипептид по любому из пп. 8-28, отличающийся тем, что указанный вариантный ИЛ-2 содержит замену F42 на Ala, Gly, Val, Ile или Leu.

34. Мультимерный полипептид по п. 33, отличающийся тем, что указанный вариантный ИЛ-2 содержит замены F42 и D20 или замены F42 и H16.

35. Мультимерный полипептид по п. 33, отличающийся тем, что указанный вариантный ИЛ-2 содержит замены F42, D20 и Y45; или замены F42, H16 и Q126.

36. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид,

i) при этом указанный рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к C-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);
- c) иммуномодуляторный полипептид;
- d) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig);

при этом указанный иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью указанного встречающегося в природе костимуляторного белка к его указанному партнерскому костимуляторному белку; или же

ii) при этом указанный рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к C-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид ГКГС;
- c) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- d) иммуномодуляторный полипептид
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид Ig,

при этом указанный иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к его партнерскому костимуляторному белку.

37. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид,

i) при этом указанный рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к C-концу:

- a) эпитоп;

- b) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);
- c) иммуномодуляторный полипептид;
- d) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig);

при этом указанный иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариантный иммуномодуляторный полипептид по любому из пп. 1-6; или же

ii) при этом указанный рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к C-концу:

- a) эпитоп;
- b) первый полипептид ГКГС;
- c) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
- d) иммуномодуляторный полипептид
- e) второй полипептид ГКГС; а также
- f) Fc-полипептид Ig,

при этом указанный иммуномодуляторный полипептид представляет собой вариантный иммуномодуляторный полипептид по любому из пп. 1-6.

38. Нуклеиновая кислота по пп. 36 или 37, отличающаяся тем, что указанный первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и отличающаяся тем, что указанный второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

39. Нуклеиновая кислота по п. 38, отличающаяся тем, что указанный полипептид β 2-микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на Фиг. 6.

40. Нуклеиновая кислота по п. 38, отличающаяся тем, что указанный полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь ЧЛА-А, ЧЛА-В или ЧЛА-С.

41. Нуклеиновая кислота по п. 40, отличающаяся тем, что указанный полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной на любой из Фиг. 5А-5С.

42. Нуклеиновая кислота по п. 36 или 37, отличающаяся тем, что указанный первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и отличающаяся тем, что указанный второй полипептид ГКГС представляет собой

полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

43. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 36-42, отличающаяся тем, что указанный эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

44. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 36-43, отличающаяся тем, что указанный Fc-полипептид Ig представляет собой Fc-полипептид IgG1, Fc-полипептид IgG2, Fc-полипептид IgG3, Fc-полипептид IgG4, Fc-полипептид IgA или Fc-полипептид IgM.

45. Нуклеиновая кислота по п. 44, отличающаяся тем, что указанный Fc-полипептид Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на Фиг. 4А-4С.

46. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 37-45, отличающаяся тем, что указанный вариантный иммуномодуляторный ИЛ-2 полипептид содержит замену одной или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

47. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 36-46, отличающаяся тем, что указанный мультимерный полипептид содержит второй иммуномодуляторный полипептид, выбранный из CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, ЧЛА-G, MICA, MICB, HVEM, рецептора лимфотоксина-бета, 3/TR6, ILT3, ILT4 и HVEM.

48. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 36-47, отличающаяся тем, что указанные протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы содержат аминокислотную последовательность, выбранную из:

- a) LEVLFQGP (SEQ ID NO: 29);
- b) ENLYTQS (SEQ ID NO: 30);
- c) сайт расщепления фурином;
- d) LVPR (SEQ ID NO: 32);
- e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 33);
- f) GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 34);
- g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 35); а также
- h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 36).

49. Нуклеиновая кислота по пп. 36-48, отличающаяся тем, что указанный рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца к С-концу:

- a) первый лидерный пептид;
- b) указанный эпитоп;
- c) указанный первый полипептид ГКГС;
- d) указанный иммуномодуляторный полипептид;

е) указанный протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;

ф) второй лидерный пептид;

г) указанный второй полипептид ГКГС; а также

h) указанный Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig).

50. Нуклеиновая кислота по п. 49, отличающаяся тем, что указанный первый лидерный пептид и указанный второй лидерный пептид представляют собой лидерный пептид β 2-М.

51. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 36-50, отличающаяся тем, что указанная нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции.

52. Нуклеиновая кислота по п. 51, отличающаяся тем, что указанный элемент контроля транскрипции представляет собой промотор, который функционирует в эукариотической клетке.

53. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 36-52, отличающаяся тем, что указанный первый полипептид ГКГС или линкер между указанным эпитопом и указанным первым полипептидом ГКГС содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, а указанный второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену чтобы получить второй остаток Cys, и причем указанные первый и второй остатки Cys обеспечивают дисульфидную связь между указанным первым полипептидом ГКГС и указанным вторым полипептидом ГКГС.

54. Рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по любому из пп. 36-52, который, необязательно, является вирусным вектором.

55. Клетка-хозяин, генетически модифицированная рекомбинантным вектором экспрессии по п. 54.

56. Клетка-хозяин по п. 55, отличающаяся тем, что находится *in vitro* и отличающаяся тем, что, необязательно, генетически модифицирована так, что клетка не продуцирует эндогенный полипептид β 2-микроглобулина ГКГС.

57. Композиция, содержащая:

а) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп;

ii) первый полипептид ГКГС; а также

iii) иммуномодуляторный домен,

при этом указанный иммуномодуляторный полипептид представляет собой

вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к его партнерскому костимуляторному белку; а также

b) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к C-концу:

i) второй полипептид ГКГС; а также

ii) Fc-полипептид Ig.

58. Композиция, содержащая:

a) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к C-концу:

i) эпитоп; а также

ii) первый полипептид ГКГС; а также

b) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к C-концу:

i) иммуномодуляторный домен, при этом указанный иммуномодуляторный домен представляет собой вариант встречающегося в природе костимуляторного белка, и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к его партнерскому костимуляторному белку;

ii) второй полипептид ГКГС; а также

iii) Fc-полипептид Ig.

59. Композиция, содержащая:

a) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к C-концу:

i) эпитоп;

ii) первый полипептид ГКГС; а также

iii) иммуномодуляторный домен,

при этом указанный иммуномодуляторный домен представляет собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-6; а также

b) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к C-концу:

i) второй полипептид ГКГС; а также

ii) Fc-полипептид Ig.

60. Композиция, содержащая:

а) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп; а также

ii) первый полипептид ГКГС; а также

б) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, содержащий, в порядке от N-конца к С-концу:

i) иммуномодуляторный домен, при этом указанный иммуномодуляторный домен представляет собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-6;

ii) второй полипептид ГКГС; а также

iii) Fc-полипептид Ig.

61. Композиция по любому из пп. 57-60, отличающаяся тем, что указанная первая и/или указанная вторая нуклеиновая кислота присутствуют в рекомбинантном векторе экспрессии.

62. Клетка-хозяин генетически модифицированная композицией по любому из пп. 57-61.

63. Способ получения мультимерного полипептида по любому из пп. 7-35, включающий:

а) культивирование клетки-хозяина по любому из пп. 55, 56 и 62 *in vitro* в культуральной среде в условиях, при которых указанная клетка-хозяин синтезирует указанный мультимерный полипептид; а также

б) выделение указанного мультимерного полипептида из указанной клетки-хозяина и/или из указанной культуральной среды.

64. Способ по п. 63, отличающийся тем, что указанный второй полипептид содержит аффинную метку и отличающийся тем, что указанное выделение включает контактирование мультимерного полипептида, продуцируемого указанной клеткой, с партнером по связывания аффинной метки, при этом указанный партнер по связыванию иммобилизован, тем самым иммобилизуя мультимерный полипептид.

65. Способ по п. 64, включающий элюирование указанного иммобилизованного мультимерного полипептида.

66. Способ избирательной активации эпитоп-специфичной Т-клетки, включающий контакт указанной Т-клетки с мультимерным полипептидом по любому из пп. 7-35, причем указанное контактирование избирательно активирует эпитоп-специфичную Т-клетку.

67. Способ по п. 66, отличающийся тем, что указанное контактирование

происходит *in vitro*.

68. Способ по п. 66, отличающийся тем, что указанное контактирование происходит *in vivo*.

69. Способ по п. 66, отличающийся тем, что указанный эпитоп представляет собой эпитоп, ассоциированный с раком, и отличающийся тем, что указанное введение избирательно увеличивает активность Т-клетки, специфичной к указанному эпитопу, ассоциированному с раком.

70. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества:

а) мультимерного полипептида по любому из пп. 7-35; или же

б) одного или нескольких рекомбинантных экспрессирующих векторов, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из пп. 7-35; или же

с) одной или нескольких мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из пп. 7-35,

при этом указанный эпитоп представляет собой связанный с раком эпитоп, и при этом указанное введение эффективно для избирательной активации специфичной к эпитопу рака Т-клетки у индивидуума.

71. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение является подкожным.

72. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение является внутривенным.

73. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение является перитуморальным.

74. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение является системным.

75. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение является дистальным по отношению к месту лечения.

76. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение является местным.

77. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанное введение происходит в месте лечения или около места лечения.

78. Композиция, содержащая:

а) указанный мультимерный полипептид по любому из пп. 7-35; а также

б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

79. Композиция, содержащая:

а) нуклеиновую кислоту по любому из пп. 36-53 или рекомбинантный вектор экспрессии по п. 54; а также

б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

80. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп;

ii) полипептид β 2-микроглобулина (β 2M), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) вариант встречающегося в природе костимуляторного белка и при этом указанный вариант проявляет пониженную аффинность к своему партнерскому костимуляторному белку на Т-клетке по сравнению с аффинностью встречающегося в природе костимуляторного белка к его партнерскому костимуляторному белку, вариант которого может, необязательно, представлять собой вариантный ИЛ-2 полипептид по любому из пп. 1-6;

ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; а также

iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S.

81. Мультимерный полипептид по п. 80, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену N297A.

82. Мультимерный полипептид по п. 80, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234A и замену L235A.

83. Мультимерный полипептид по п. 80, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F и замену L235E.

84. Мультимерный полипептид по п. 80, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S.

85. Мультимерный полипептид по любому из пп. 80-84, отличающийся тем, что указанный второй полипептид содержит две копии указанного вариантного ИЛ-2 полипептида.

86. Мультимерный полипептид по любому из пп. 80-85, отличающийся тем, что указанный первый полипептид содержит пептидный линкер между указанным эпитопом и указанным β 2M-полипептидом.

87. Мультимерный полипептид по любому из пп. 80-86, отличающийся тем, что

указанный второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из:

а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида;

б) указанным вариантным ИЛ-2 полипептидом и указанным полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

с) между указанным полипептидом тяжелой цепи ГКГС и указанным Fc-полипептидом IgG1.

88. Мультимерный полипептид согласно п. 86 или п. 87, отличающийся тем, что указанный пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃, (GGGGS)₄ и AAAGG.

89. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к C-концу:

i) эпитоп;

ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к C-концу:

i) вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В;

ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; а также

iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S.

90. Мультимерный полипептид по п. 89, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену N297A.

91. Мультимерный полипептид по п. 89, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234A и замену L235A.

92. Мультимерный полипептид по п. 89, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F и замену L235E.

93. Мультимерный полипептид по п. 89, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S.

94. Мультимерный полипептид по любому из пп. 89-93, отличающийся тем, что указанный второй полипептид содержит две копии указанного вариантного ИЛ-2 полипептида.

95. Мультимерный полипептид по любому из пп. 89-94, отличающийся тем, что

указанный первый полипептид содержит пептидный линкер между указанным эпитопом и указанным β 2М-полипептидом.

96. Мультимерный полипептид по любому из пп. 89-95, отличающийся тем, что указанный второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из:

а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида;

б) указанным вариантным ИЛ-2 полипептидом и указанным полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

с) указанным полипептидом тяжелой цепи ГКГС и указанным Fc-полипептидом IgG1.

97. Мультимерный полипептид по п. 95 или п. 96, отличающийся тем, что указанный пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃, (GGGGS)₄ и AAAGG.

98. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) эпитоп, содержащий аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO:13);

ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34А; а также

б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца к С-концу:

i) вариантный ИЛ-2 полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34В;

ii) полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 34С; а также

iii) Fc-полипептид IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33А, 33В, 33С или 33D.

99. Мультимерный полипептид по п. 98, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33В.

100. Мультимерный полипептид по п. 98, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 33С.

101. Мультимерный полипептид по п. 98, отличающийся тем, что указанный Fc-полипептид IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг.

33D.

102. Мультимерный полипептид по любому из пп. 98-101, отличающийся тем, что указанный второй полипептид содержит две копии вариантного ИЛ-2 полипептида.

103. Мультимерный полипептид по любому из пп. 98-102, отличающийся тем, что указанный первый полипептид содержит пептидный линкер между указанным эпитопом и указанным β 2М полипептидом.

104. Мультимерный полипептид по любому из пп. 98-103, отличающийся тем, что указанный второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из:

а) первой копией вариантного ИЛ-2 полипептида и второй копией вариантного ИЛ-2 полипептида;

б) указанным вариантным ИЛ-2 полипептидом и указанным полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

с) указанным полипептидом тяжелой цепи ГКГС и Fc-полипептидом IgG1.

105. Мультимерный полипептид по п. 103 или п. 104, отличающийся тем, что указанный пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃, (GGGGS)₄ и AAAGG.

106. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31;

б) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 22.

107. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31;

б) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 25.

108. Мультимерный полипептид, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 31;

б) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на Фиг. 28.

109. Фармацевтическая композиция, содержащая:

а) мультимерный полипептид по любому из пп. 80-108; а также

б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

110. Одна или несколько нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные

последовательности, кодирующие указанный первый и/или указанный второй полипептид указанного мультимерного полипептида, по любому из пп. 80-108.

111. Одна или несколько нуклеиновых кислот по п. 110, отличающихся тем, что указанная(ые) нуклеиновая кислота(ты) присутствует/присутствуют в рекомбинантных векторах экспрессии.

112. Способ избирательной активации эпитоп-специфичной Т-клетки, включающий контакт указанной Т-клетки с мультимерным полипептидом по любому из пп. 80-108, при этом указанное контактирование избирательно активирует указанную эпитоп-специфичную Т-клетку.

113. Способ по п. 112, отличающийся тем, что указанное контактирование происходит *in vitro*.

114. Способ по п. 112, отличающийся тем, что указанное контактирование происходит *in vivo*.

115. Способ, включающий введение индивидууму эффективного количества:

а) указанного мультимерного полипептида по любому из пп. 80-108; или же
б) одного или нескольких рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из пп. 80-108; или же

с) одной или нескольких мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из пп. 80-108,

при этом указанное введение индуцирует ответ Т-клеток на эпитоп у индивидуума.

116. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение является подкожным.

117. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение является внутривенным.

118. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение является системным.

119. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение является внутримышечным.

120. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение является дистальным по отношению к месту лечения.

121. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение является локальным.

122. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное введение находится в месте или вблизи места лечения.

123. Способ доставки костимуляторного полипептида избирательно к целевой Т-клетке, включающий контактирование смешанной популяции Т-клеток с указанным мультимерным полипептидом по любому из пп. 7-35 и 80-108, причем указанная смешанная популяция Т-клеток содержит целевую Т-клетку и нецелевые Т-клетки,

причем целевая Т-клетка специфична к эпитопу, присутствующему в указанном мультимерном полипептиде, и

причем указанное контактирование доставляет костимуляторный полипептид, присутствующий в указанном мультимерном полипептиде, к указанной целевой Т-клетке.

124. Способ доставки ИЛ-2 или вариантного ИЛ-2 избирательно к целевой Т-клетке, включающий контакт смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по любому из пп. 8-35 и 80-108, причем указанная смешанная популяция Т-клеток включает указанную целевую Т-клетку и нецелевые Т-клетки,

причем указанная целевая Т-клетка специфична к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде, и

причем указанное контактирование доставляет указанные ИЛ-2 или вариантный ИЛ-2, присутствующие в мультимерном полипептиде, к целевой Т-клетке.

125. Способ по п. 123 или 124, отличающийся тем, что указанная популяция Т-клеток находится *in vitro*.

126. Способ по п. 123 или 124, отличающийся тем, что указанная популяция Т-клеток находится *in vivo* у индивидуума.

127. Способ по п. 126, включающий введение указанного мультимерного полипептида указанному индивидууму.

128. Способ по любому из пп. 123-127, отличающийся тем, что указанной целевой Т-клеткой является регуляторная Т-клетка.

129. Способ по любому из пп. 123-127, отличающийся тем, что указанная целевая Т-клетка представляет собой цитотоксическую Т-клетку.

130. Способ по пп. 123 или 124, отличающийся тем, что указанная смешанная популяция Т-клеток представляет собой смешанную популяцию Т-клеток *in vitro*, полученную от индивидуума, и при этом указанное контактирование приводит к активации и/или пролиферации указанной целевой Т-клетки, генерируя популяцию активированных и/или пролиферированных целевых Т-клеток.

131. Способ по п. 130, дополнительно включающий введение указанной популяции активированных и/или пролиферированных целевых Т-клеток указанному индивидууму.

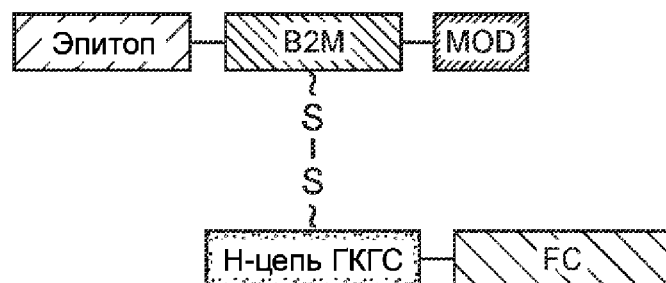
132. Способ обнаружения в смешанной популяции Т-клеток, полученных от

индивидуума, наличия целевой Т-клетки, которая связывает эпитоп, представляющий интерес, при этом указанный способ включает:

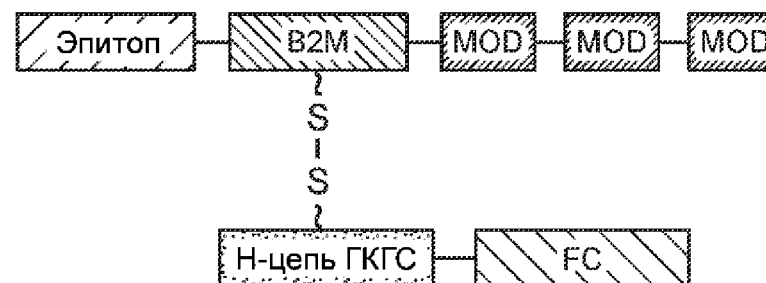
а) контактирование указанной смешанной популяции Т-клеток *in vitro* с указанным мультимерным полипептидом по любому из пп. 7-35 и 80-108, при этом указанный мультимерный полипептид содержит эпитоп, представляющий интерес; и

б) обнаружение активации и/или пролиферации Т-клеток в ответ на упомянутое контактирование, при этом активированные и/или пролиферированные Т-клетки указывают на присутствие целевой Т-клетки.

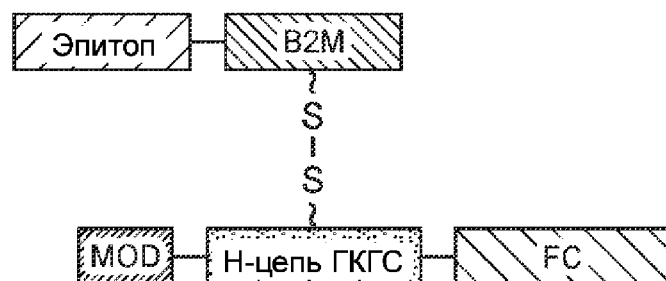
Фиг. 1А



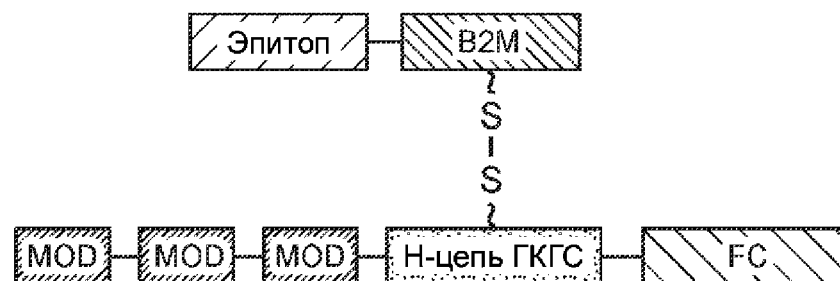
Фиг. 1С



Фиг. 1В



Фиг. 1D



Фиг. 2А

ИЛ12 – *Homo sapiens*

APTSSSTKKT QLQLEEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1)

Фиг. 2В

ИЛ12 (F42X) (SEQ ID NO:38)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2С

ИЛ12 (D20X) (SEQ ID NO:39)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLDX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2D

ИЛ12 (E15X) (SEQ ID NO:40)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2Е

ИЛ2 (H16X) (SEQ ID NO:41)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2F

ИЛ2 (Y45X) (SEQ ID NO:42)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2G

ИЛ2 (Q126X) (SEQ ID NO:43)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT

Фиг. 2H

ИЛ2 (F42X; H16X) (SEQ ID NO:44)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2I

ИЛ2 (F42X; D20X) (SEQ ID NO:45)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2J

ИЛ2 (F42X; D20X; E15X) (SEQ ID NO:46)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2K

ИЛ2 (F42X; D20X; H16X) (SEQ ID NO:47)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2L

ИЛ2 (F42X; D20X; Q126X) (SEQ ID NO:48)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT

Фиг. 2М

ИЛ2 (F42X; D20X; Y45X) (SEQ ID NO:49)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2N

ИЛ2 (F42X; D20X; Y45X; H16X) (SEQ ID NO:50)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT

Фиг. 2O

ИЛ2 (F42X; D20X; Y45X; Q126X) (SEQ ID NO:51)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT

Фиг. 2P

ИЛ2 (F42X; D20X; Y45X; H16X; Q126X) (SEQ ID NO:52)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT

Фиг. 2Q

ИЛ2 – (F42X, H16X, Q126X) (SEQ ID NO:53)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT

Фиг. 3А

ИЛ2Р - альфа цепь (SEQ ID NO:54)

Homo sapiens

```
1  MDSYLLMWGL  LTFIMVPGCQ  AELCDDDPPE  IPHATFKAMA  YKEGTM LNCE  CKRGFERRIKS
61  GSLYMLCTGN  SSHSSWDNQC  QCTSSATRNT  TKQVTPQPEE  QKERKTTEMQ  SPMQFVDQAS
121  LPGHCREPPP  WENEATERIY  HFVVGQMVYY  QCVQGYRALH  RGP AESVCKM  THGKTRWTQP
181  QLIC TGEMET  SQFPGEEKPQ  ASPEGRPESE  TSCLVTTTDF  QIQTEMAATM  ETSIFTTEYQ
241  VAVAGCVFLL  ISVLLLSGLT  WQRRQRKSRR  TI
```

Зрелая = аминокислоты 22-272

Фиг. 3В

ИЛ2Р - бета цепь (SEQ ID NO:55)

Homo sapiens

```
1  MAAPALSWRL  PLLILLPLA  TSWASAAVNG  TSQFTCFYNS  RANISCVWSQ  DGALQDTSCQ
61  VHAWPDRRRW  NQTCELLPVS  QASWACNLIL  GAPDSQKLTT  VDIVTLRVLC  REGVRWRVMA
121  IQDFKPFENL  RLMAPI SLQV  VHVETHRCNI  SWEISQASHY  FERHLEFEAR  TLSPGHTWEE
181  APLLTLKQKQ  EWICLETLTP  DTQYEFQVRV  KPLQGEFTTW  SPWSQPLAFR  TKPAALGKDT
241  IPWLGHLLVG  LSGAFGFIIL  VYLLINCRNT  GPWLKKVLKC  NTPDPSKFFS  QLSSEHGGDV
301  QKWLSSPFPS  SSFSPGGLAP  EISPLEVLER  DKVTQLLLQQ  DKVPEPASLS  SNHSLTSCFT
361  NQGYFFFHLP  DALEIEACQV  YFTYDPYSEE  DPDEGVAGAP  TGSSPQPLQP  LSGEDDAYCT
421  FPSRDDLLLF  SPSLLGGPSP  PSTAPGGSGA  GEERMPPSLQ  ERVPRDWDPO  PLGPPTPGVP
481  DLVDFQPPPE  LVLREAGEEV  PDAGPREGVS  FPWSRPPGQG  EFALNARLP  LNTDAYLSLQ
541  ELQGQDPTHL  V
```

Зрелая = аминокислоты 27-551

Фиг. 3С

ИЛІ2Р - гамма цепь (SEQ ID NO:56)

Homo sapiens

```

1  MLKPSLPFTS LLFLQLPLLГ VGLNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLPLPEV
61  QCFVENVEYM NCTWNSSSEP QPTNLTLYW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK
121 EIHLYQTFVV QLQDPREPRR QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSESQL ELNWNRRFLN
181 HCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL PSVDGQKRYT FRVRSRFNPL CGSAQHWSEW
241 SHPIHWGSNT SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI PTLKNLEDLV
301 TEYHGNFSAW SGVSKGLAES LQPDYSERLC LVSEIPPKGG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP
361 PCYTLKPEТ

```

Зрелая = аминокислоты 23-369

Фиг. 4А

GenBank 3S7G_A (SEQ ID NO:57)

Homo sapiens IgG1 Fc

227 aa

```
1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevkfnwyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvvt lppsrdehth nqvslthclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsffflyskl tvdksrwqqg nvfscsvmhe alhnhytqks lslspgk
```

GenBank AAN76044 (SEQ ID NO:58)

Homo sapiens IgG2 Fc (аминокислоты 99-325)

227 aa

```
1 stkgpsvfpl apcsrstsas taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vvdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqdl wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvvtlp psreemtknq
241 vsltclvkgf ypsdiavewe sngqpennyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmhcal hnhytqksls lspgk
```

GenBank AAW65947 (SEQ ID NO:59)

Homo sapiens IgG3 Fc (аминокислоты 19-246)

238 aa

```
1 hkpsntkvdk rvelkthplgd thhtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvvdvshedp evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vvsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepqvvtl ppsrdeltkn qvslthclvkg fypsdiavew
181 esngqpenny kttppvldsd gsfflysklt vdksrwqqgn vscsvmhcal lnhytqksl
241 slspgk
```

Фиг. 4В

GenBank AAA52770 (SEQ ID NO:60)

Homo sapiens **IgD Fc** (аминокислоты 162-383)

222 aa

```

1 ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrdd
61 syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkekekeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsgfsp
301 pnillmwled grevntsgfa parpppqrS ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvshed
361 srltlnasrs levsvvtdhg pmk

```

GenBank 0308221A (SEQ ID NO:61)

Homo sapiens **IgM Fc**

276 aa

```

1 vtstltikzs dWlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcvdp qdtairvfai ppsfasiflt
61 kstkltlclvt dltybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy

```

Фиг. 4С

GenBank P01876 (SEQ ID NO:62)

Homo sapiens **IgA Fc** (аминокислоты 120-353)

234 aa

```
1 asptspkvfp lsicstqpdg nvviacivqg ffpqeplsvt wsesgggvta rnfppsqdas
61 gdlyttssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpsqdvtp cpvpstpptp spstpptpsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vggpperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhvk tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgdt fscmvgheal plaftqktid rlagkpthvn vsvmaevdg tcy
```

GenBank 1F6A_B (SEQ ID NO:63)

Homo sapiens **IgE Fc** (аминокислоты 6-222)

212 aa

```
1 adpcdsnprg vsaylsrpsp fdlfirksp itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsgpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl ignfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsgffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqgravsvnp gk
```

GenBank P01861 (SEQ ID NO:64)

Homo sapiens **IgG4 Fc** (аминокислоты 100-327)

228 aa

```
1 astkgpsvfp lapcsrstse staalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdhkps ntkvdkrves kygppcpscp apeflggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepqvyt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsffflysrl tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alnhhytqks lsislglk
```

Фиг. 5А

Homo sapiens (SEQ ID NO:65)
GenBank NP_001229687
HLA-A
Аминокислоты 25-365

```

1  mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfftsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwiegeg peywdqetrn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshtiq
121 imygcdvgpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswtaa dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqrtppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwel
301 ssqptipivg iiaglvllga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvsl
361 tackv

```

Фиг. 5В

Homo sapiens (SEQ ID NO:66)
GenBank NP_005505
HLA-B
Аминокислоты 25-362

```

1  mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspree prapwiegeg peywdrtqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdvgpd grllrghdgy aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk weaareaeqr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvipivg ivaglavlav vvigavvaav mcrrkssggk ggsysqaacs dsaggsdvsl
361 ta

```

Фиг. 5С

Homo sapiens

GenBank NP_001229971 (SEQ ID NO:67)

HLA-C

Аминокислоты 25-366

```

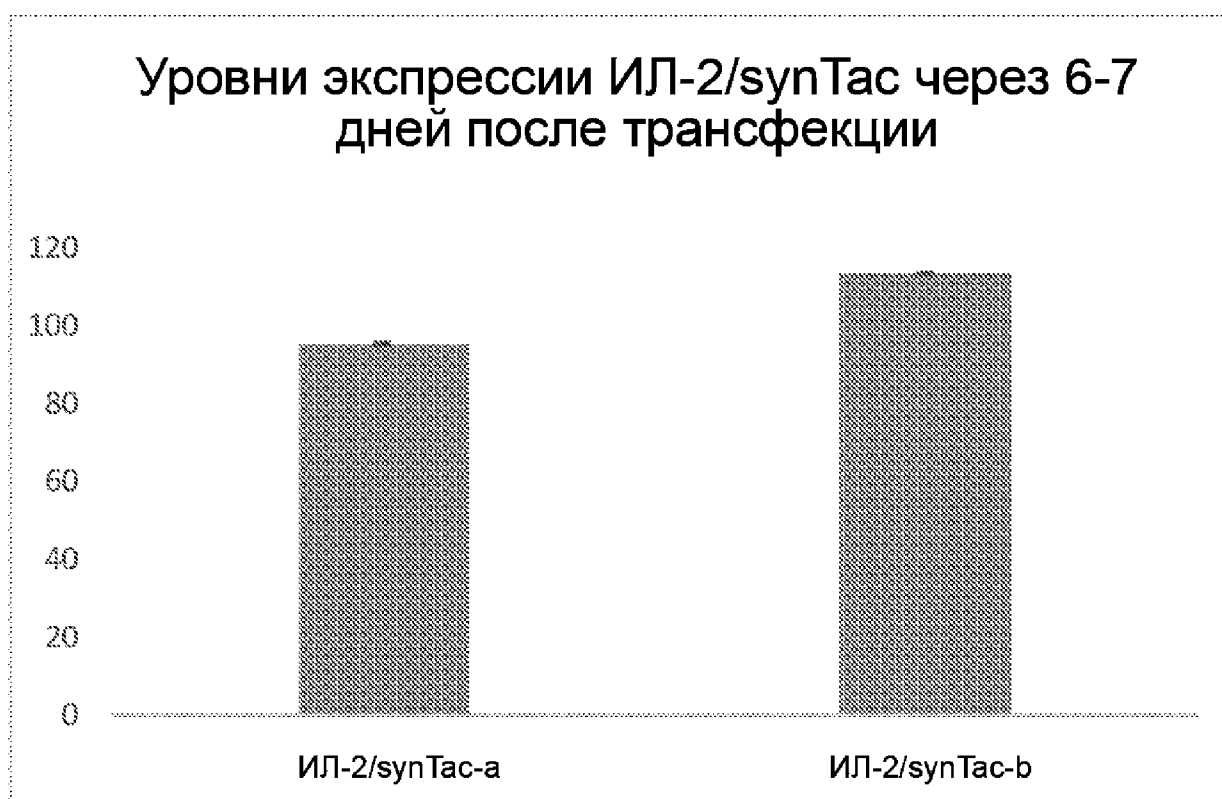
1  mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61  dsdaasprge prapwvegeg peywdretqn ykrqaqadrv slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlgpd grllrgydqs aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraeppk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfqkwaa vvvpsgqeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlvv lavlgavvta mmcrkssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litcka

```

Фиг. 6

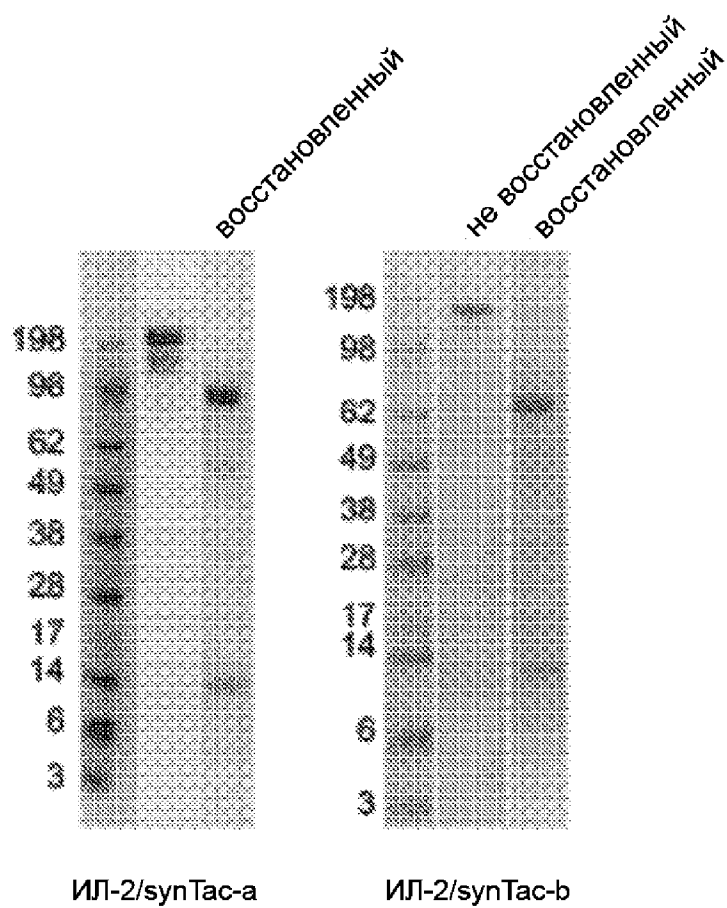
NP_004039.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTFKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001009066.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTFKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001040602.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTFKIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_776318.1	MARFVALVLLGLLSLSGLDAIQRPFKIQVYSRHPPEDGKPNYLNCYVYGFHPPQIEIDLL 60
NP_033865.2	MARSVTLVFLVLVSLTGLYAIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTQFHPPHIEIQML 60
	: *;*.~* *:*:* ** *:~.~:*****~*:*~* ***** ~*~.~*:*::~*
NP_004039.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPQKIVKWDRDM 119
NP_001009066.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPQKIVKWDRDM 119
NP_001040602.1	KNGEKMCKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTNEKDEYACRVNHVTLSPGRTVKWDRDM 119
NP_776318.1	KNGEKI-KSEQSDLSFSKDWSFYLLSHAEFTPNKDKQYSCRVKHVTLEQPRIVKWDRDL 118
NP_033865.2	KNCKKIPKVEMSDMSFSKDWSFYILAHTFTPTTETDTYACRVKHASMAEPNTVYWDORM 119
	::~ * * *~:**~* :~*****~* *~:***~*~:~* :~* * *****~

Фиг. 7А



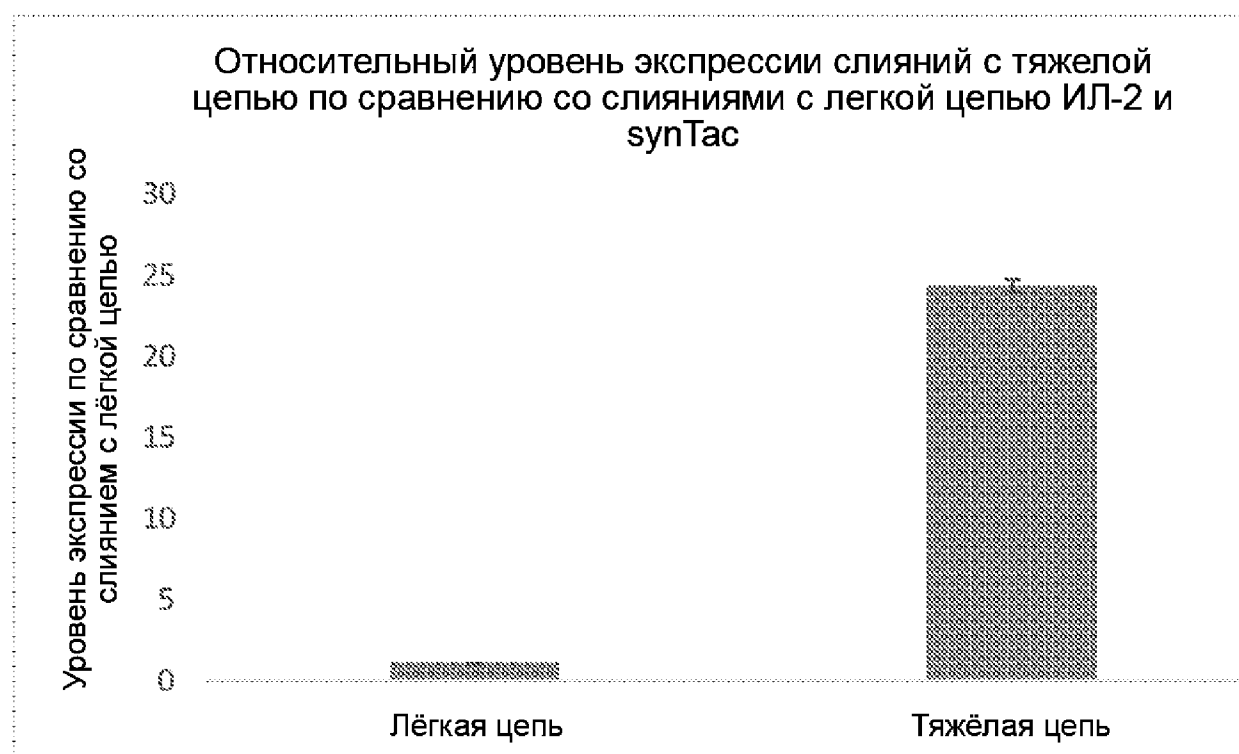
Фиг. 7В

Очищенный продукт



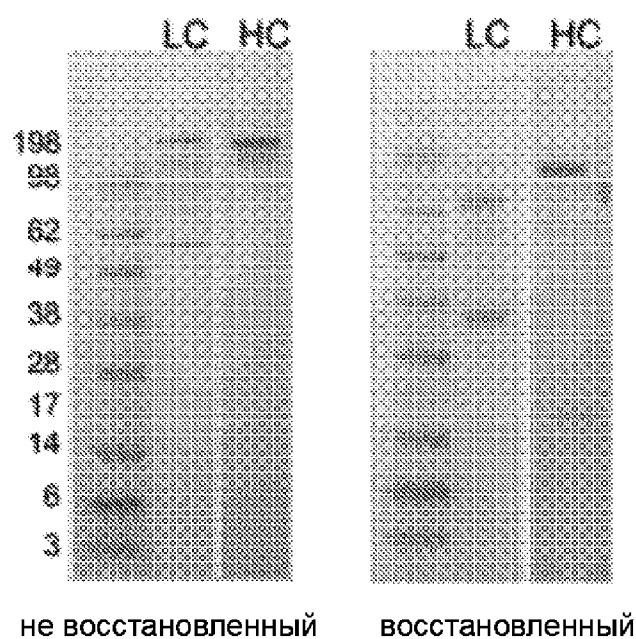
17/57

Фиг. 8А



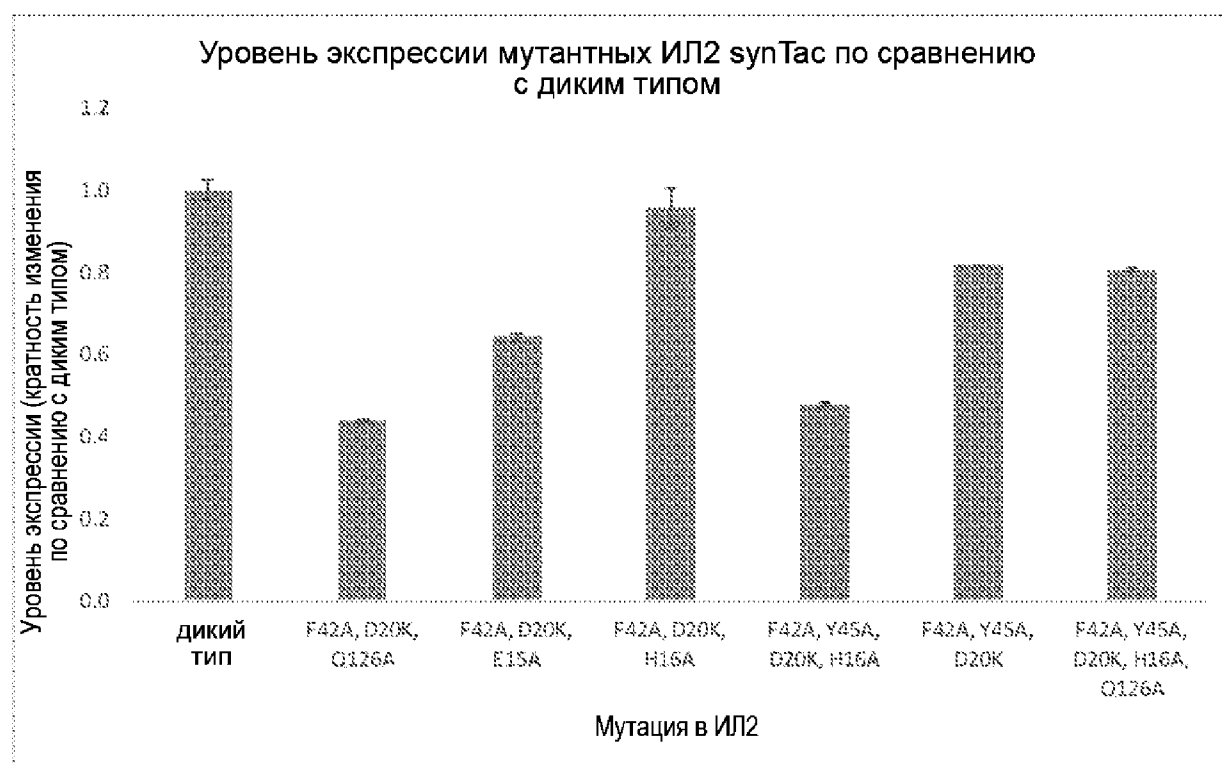
Фиг. 8В

Улучшенная стабильность со слиянием тяжелой цепи

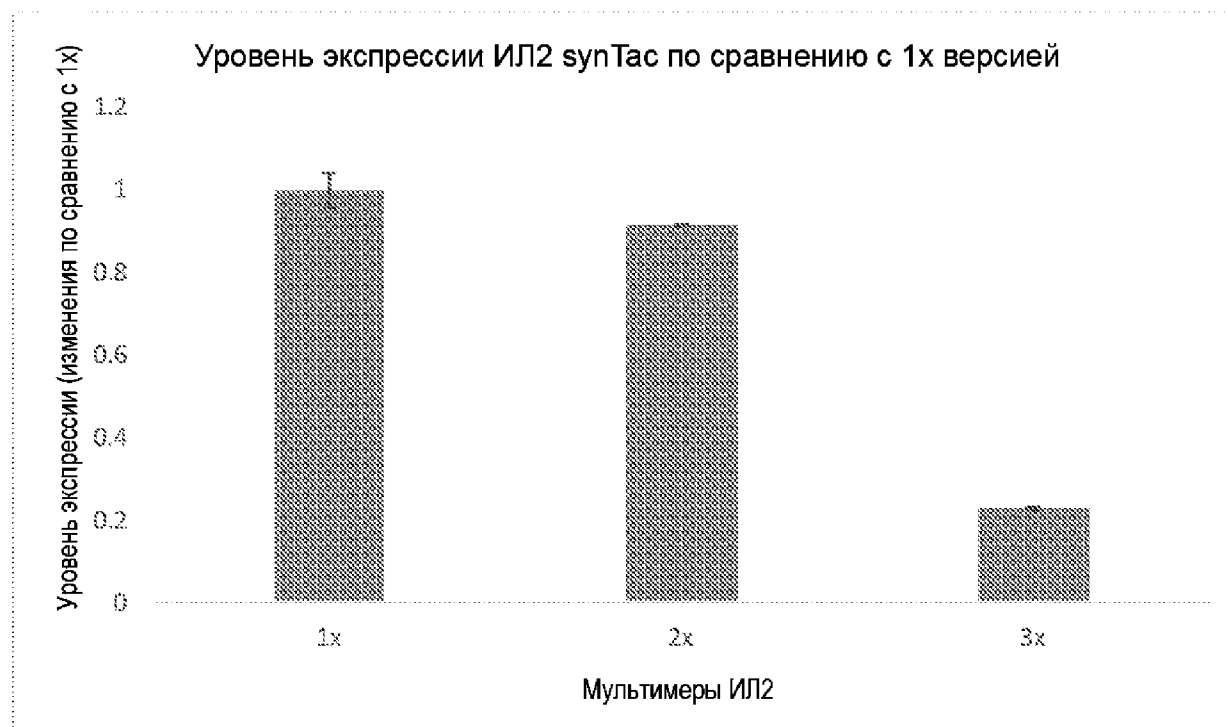


Окрашенные Кумасси аналитические гели

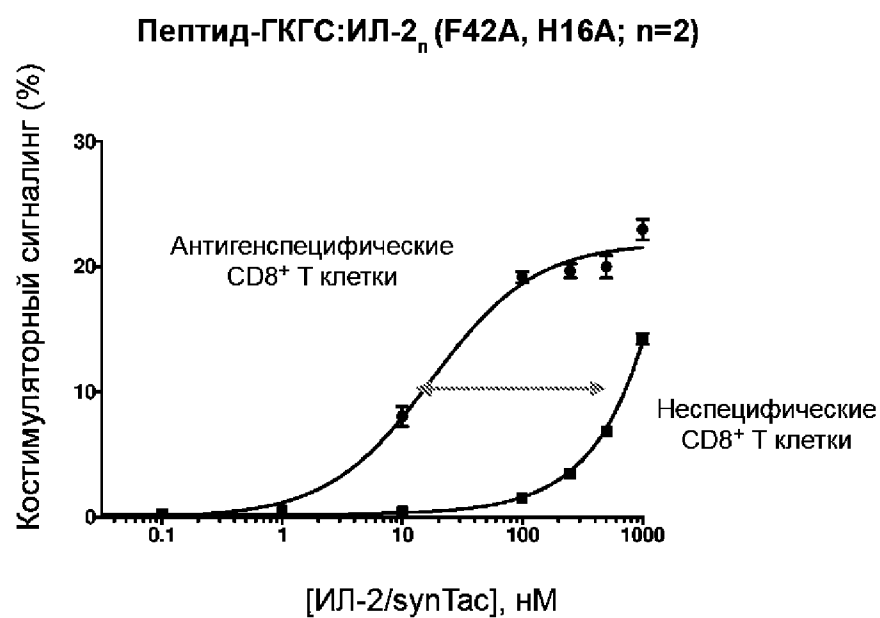
Фиг. 9



Фиг. 10

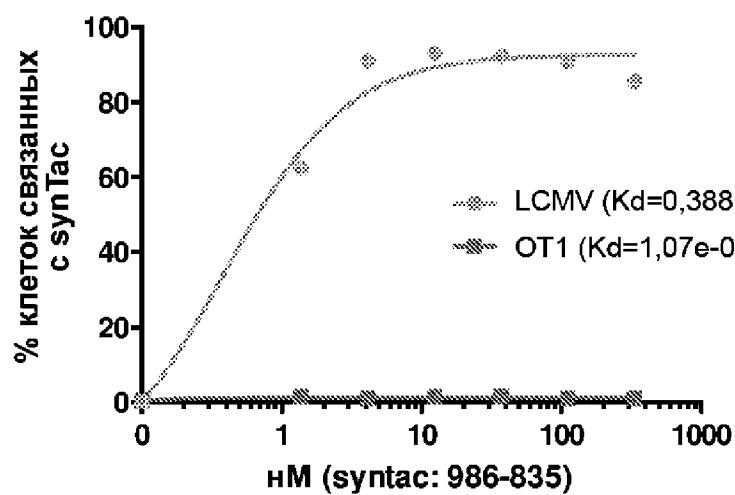
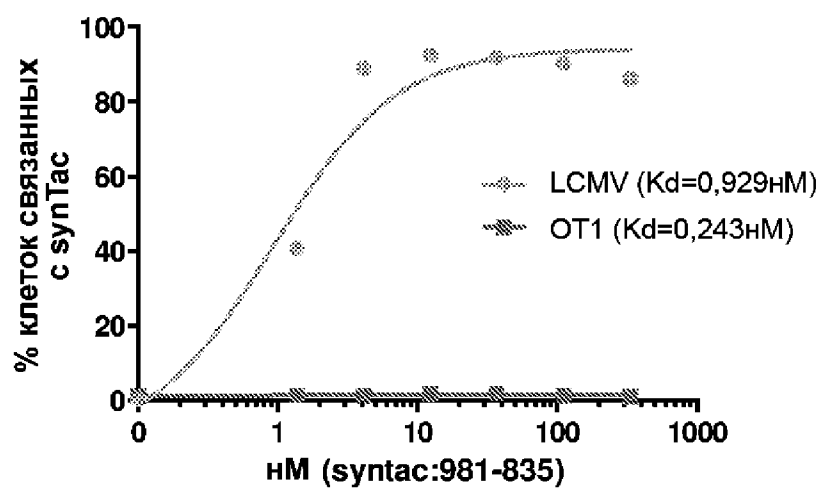


Фиг. 11



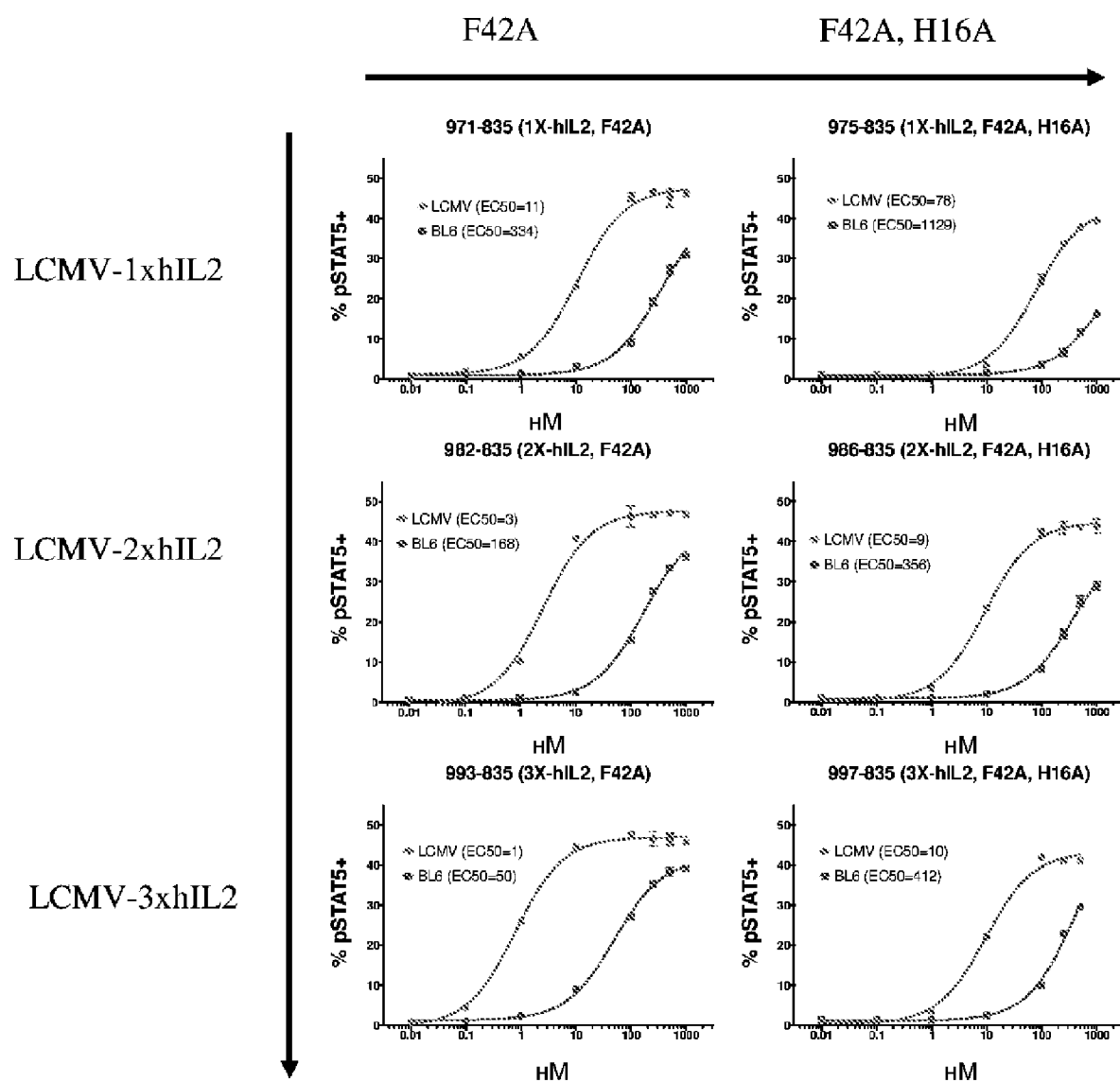
22/57

Фиг. 12



Фиг. 13

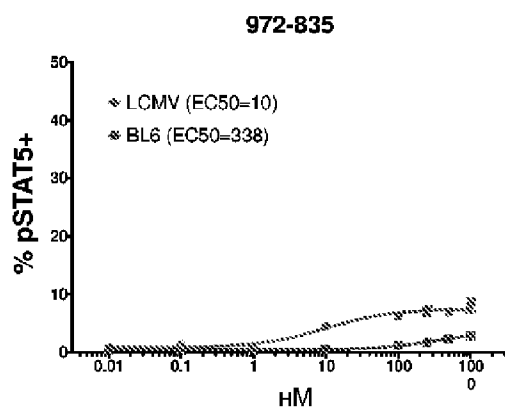
Количество повторов ИЛ-2 относительно мутаций



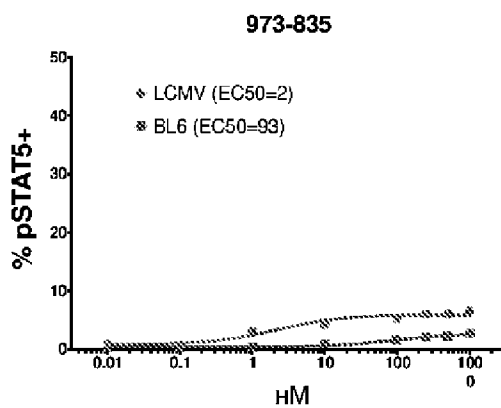
Фиг. 14А

Одна копия ИЛ-2

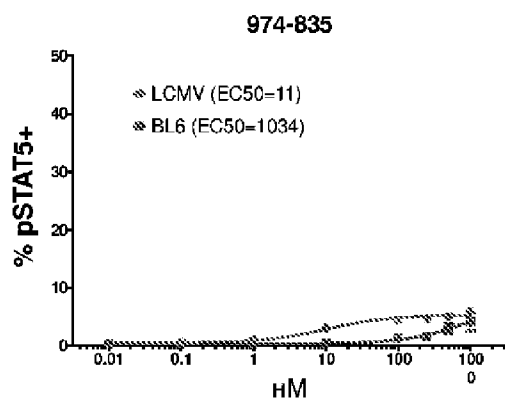
Мутация: F42A, D20K



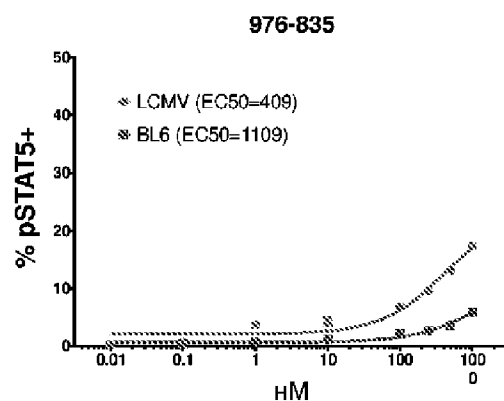
Мутация: F42A, D20K, Q126A



Мутация: F42A, D20K, E15A



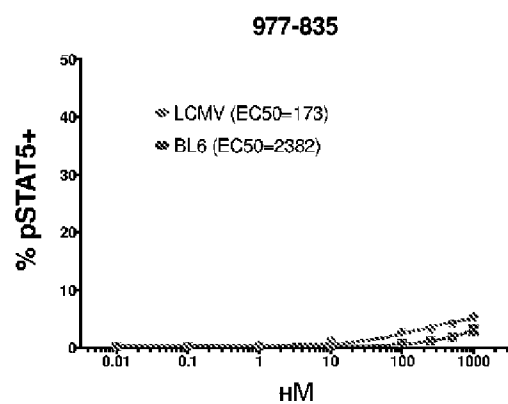
Мутация: F42A, D20K, H16A



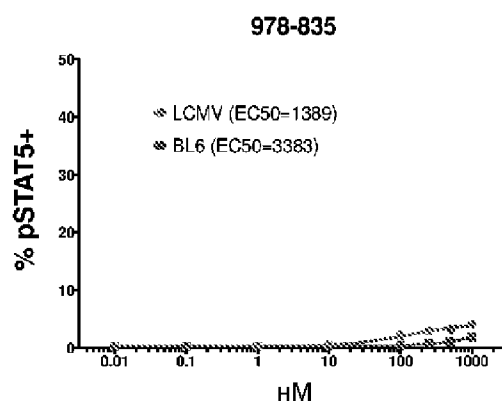
Фиг. 14В

Одна копия ИЛ-2

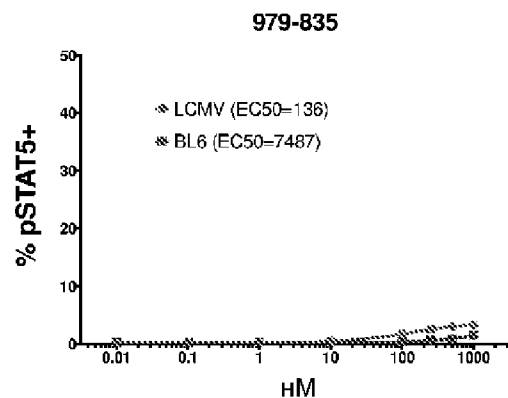
Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A



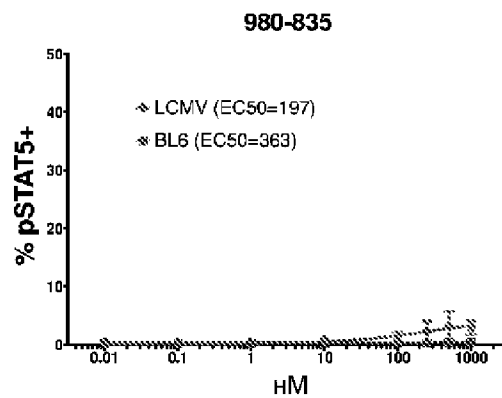
Мутация: F42A, Y45A, D20K



Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



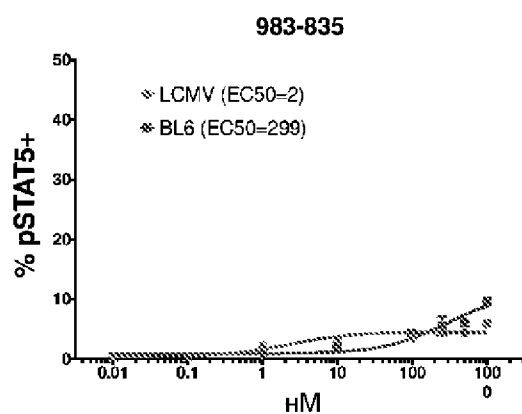
Мутация: F42A, Y45A, D20K, Q126A



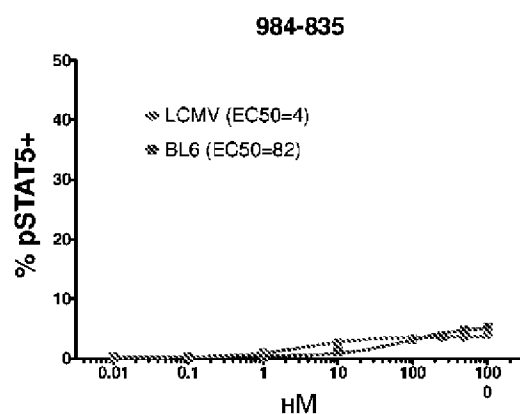
Фиг. 14С

Две копии ИЛ-2

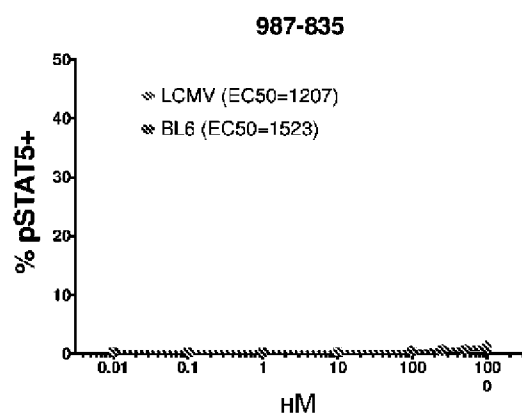
Мутация: F42A, D20K



Мутация: F42A, D20K, Q126A



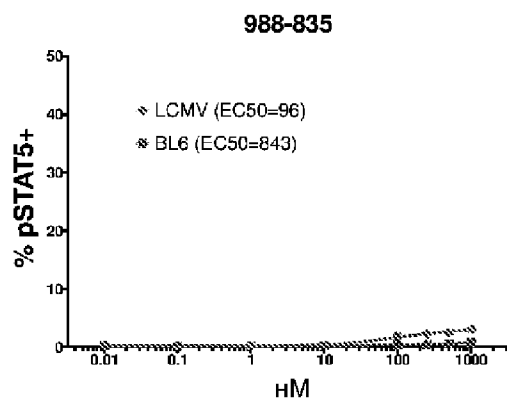
Мутация: F42A, D20K, H16A



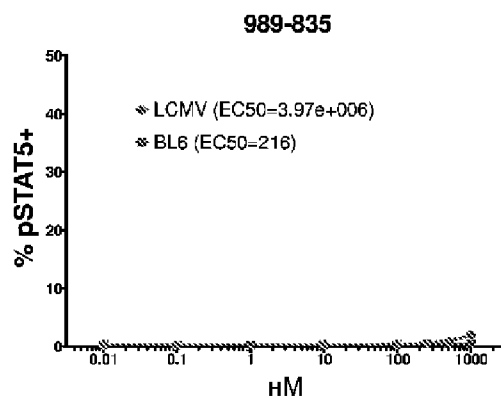
Фиг. 14D

Две копии ИЛ-2

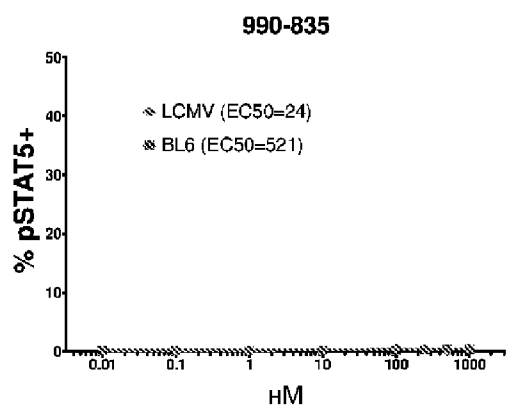
Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A



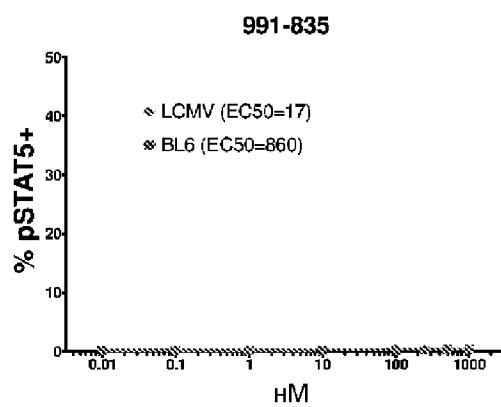
Мутация: F42A, Y45A, D20K



Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



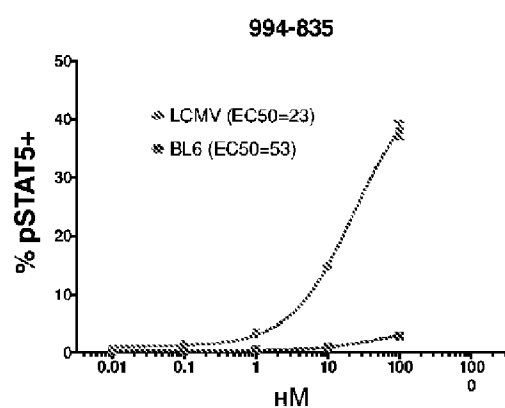
Мутация: F42A, Y45A, D20K, Q126A



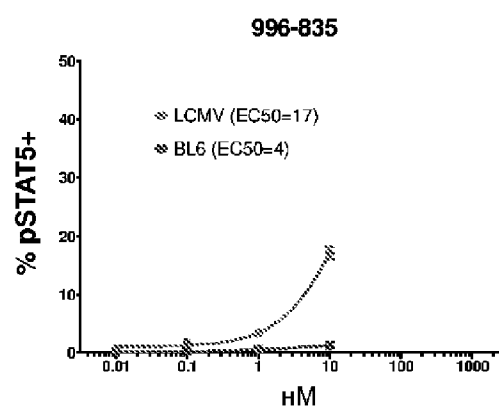
Фиг. 14Е

Три копии ИЛ-2

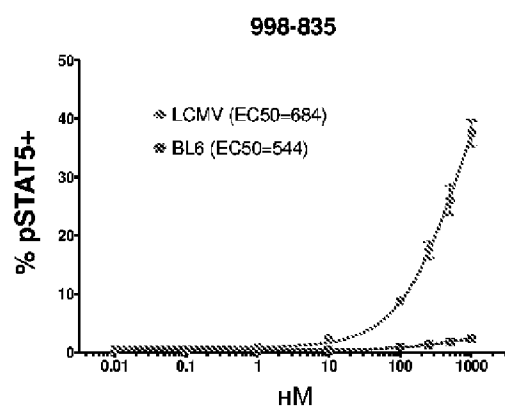
Мутация: F42A, D20K



Мутация: F42A, D20K, E15A



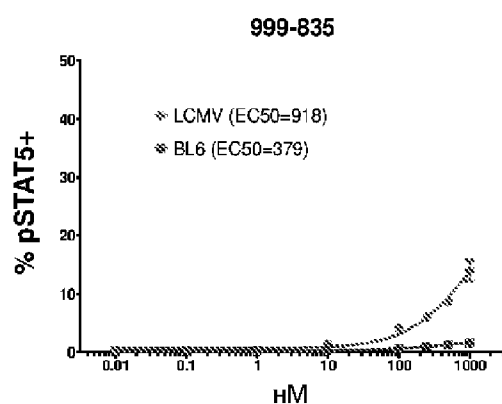
Мутация: F42A, D20K, H16A



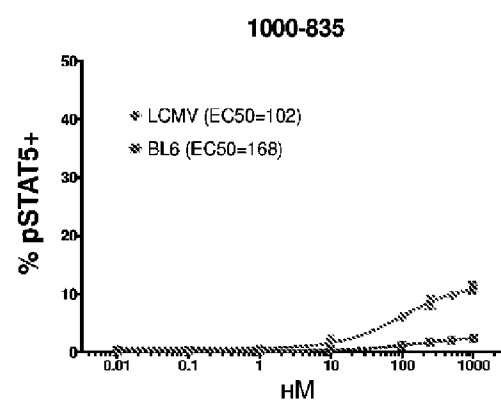
Фиг. 14F

Три копии ИЛ-2

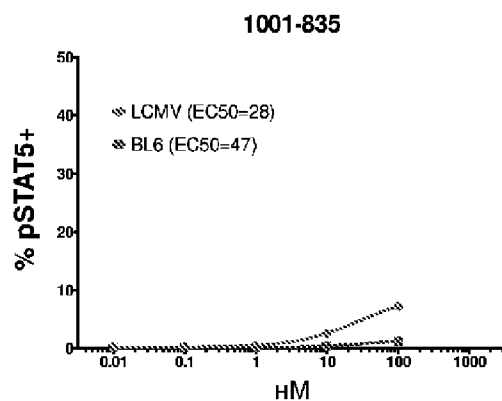
Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A



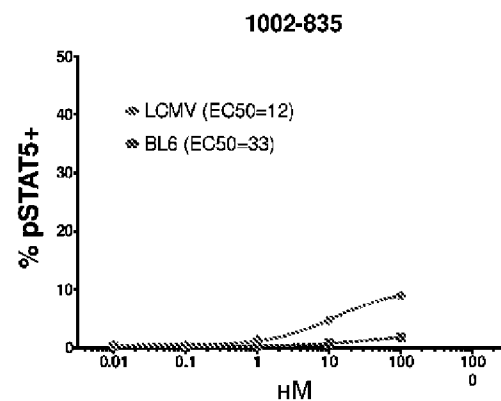
Мутация: F42A, Y45A, D20K



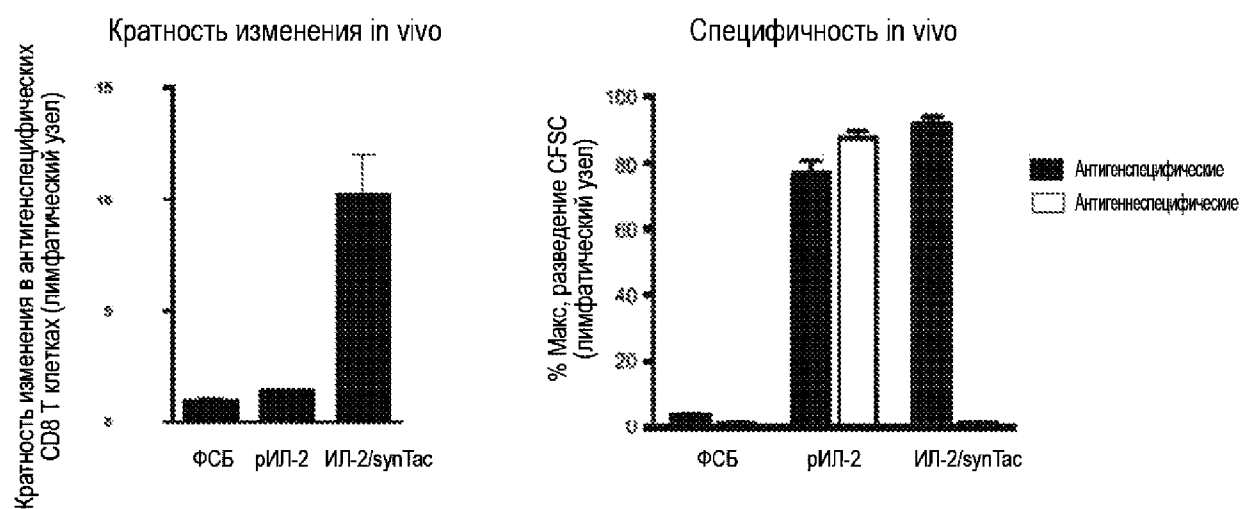
Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



Мутация: F42A, Y45A, D20K, Q126A

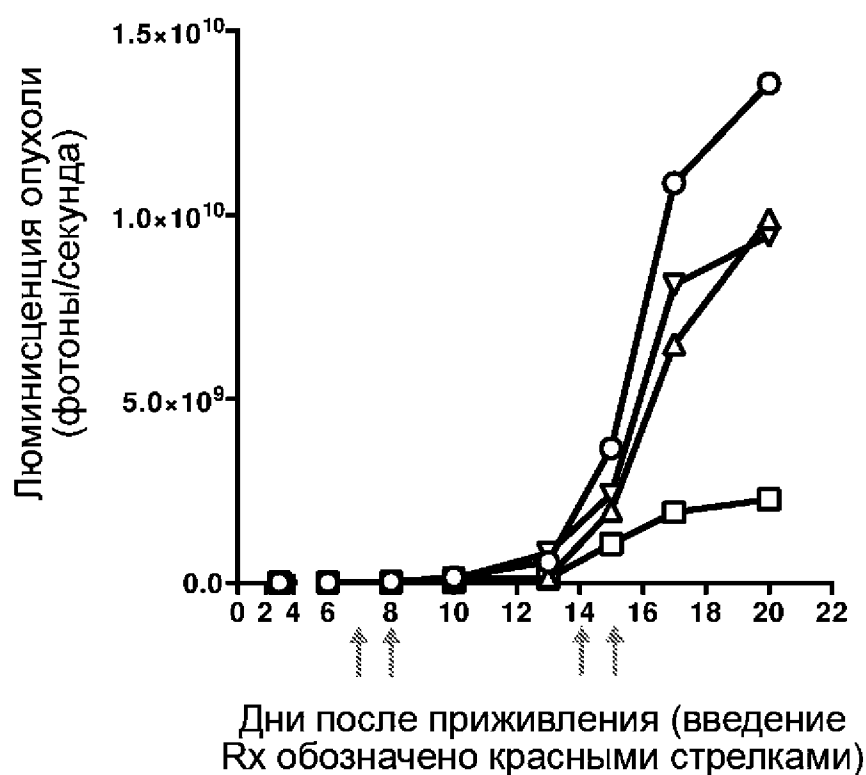


Фиг. 15



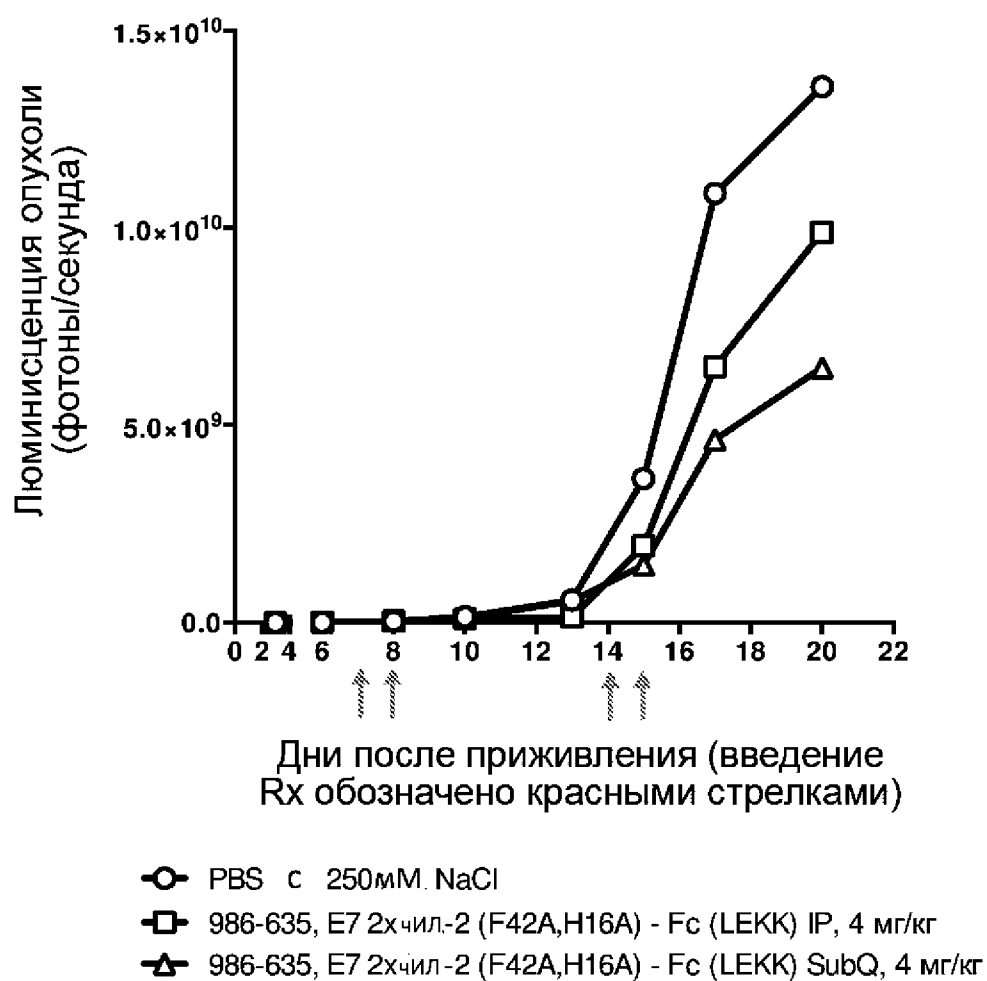
31/57

Фиг. 16А



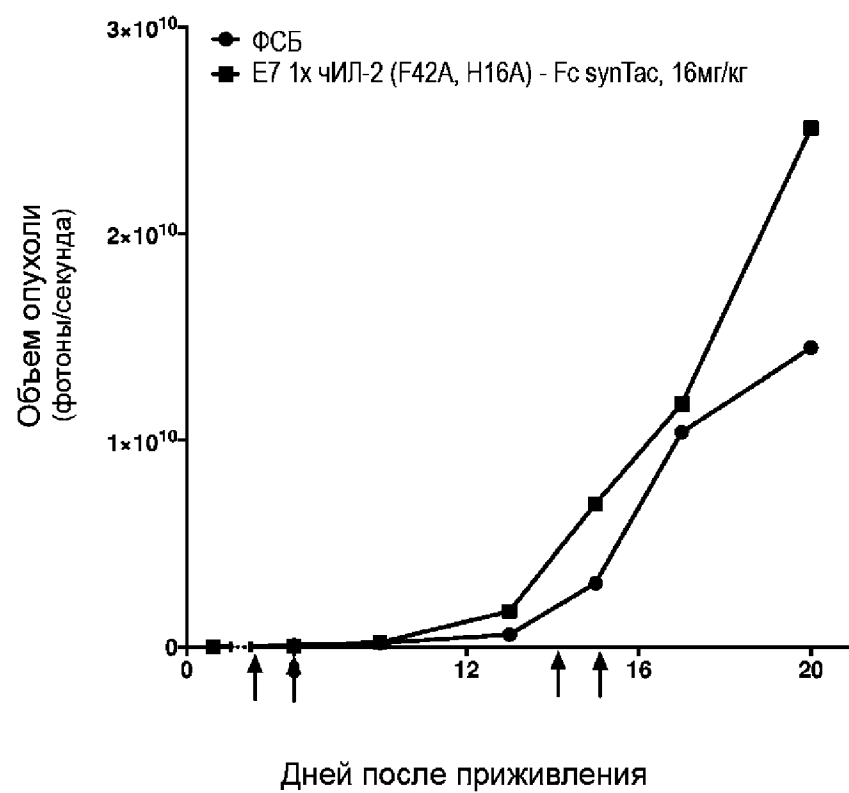
- PBS с 250 мМ NaCl
- △ 986-635, E7 2хчил-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4 мг/кг
- ▽ 986-635, E7 2хчил-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 8 мг/кг
- 986-635, E7 2хчил-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 16 мг/кг

Фиг. 16В



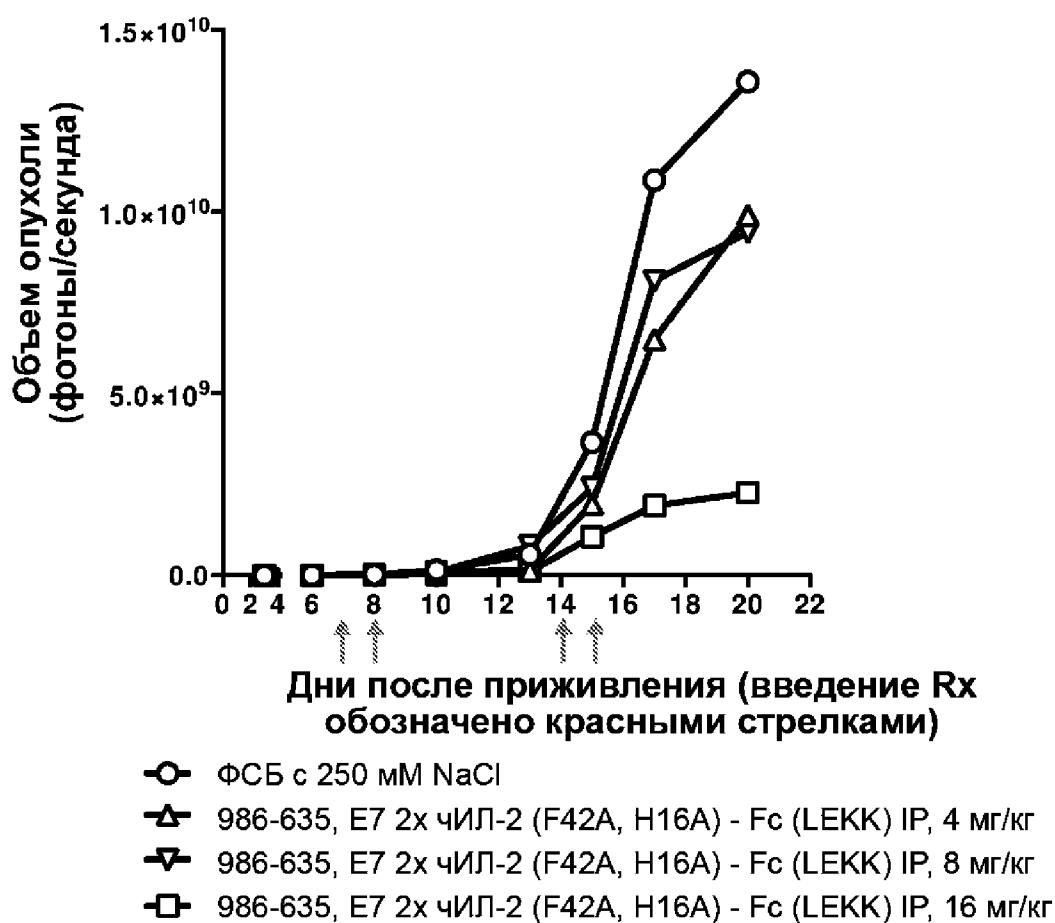
Фиг. 17А

1 x ИЛ-2 (F42A, H16A)-Fc synTac



Фиг. 17В

2 x ИЛ-2 (F42A, H16A)-Fc synTac



35/57

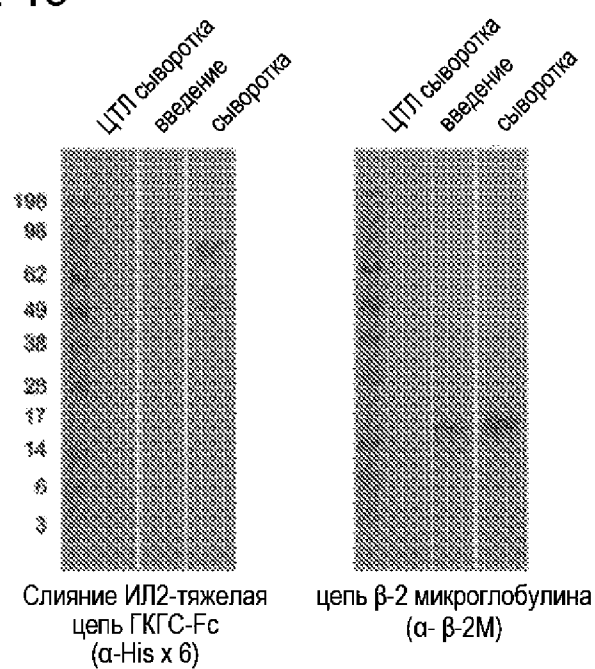
Фиг. 18

976-835 LCMV-ЧИЛ-2 (F42A, D20K, H16A) (10мг/кг, ИП)



36/57

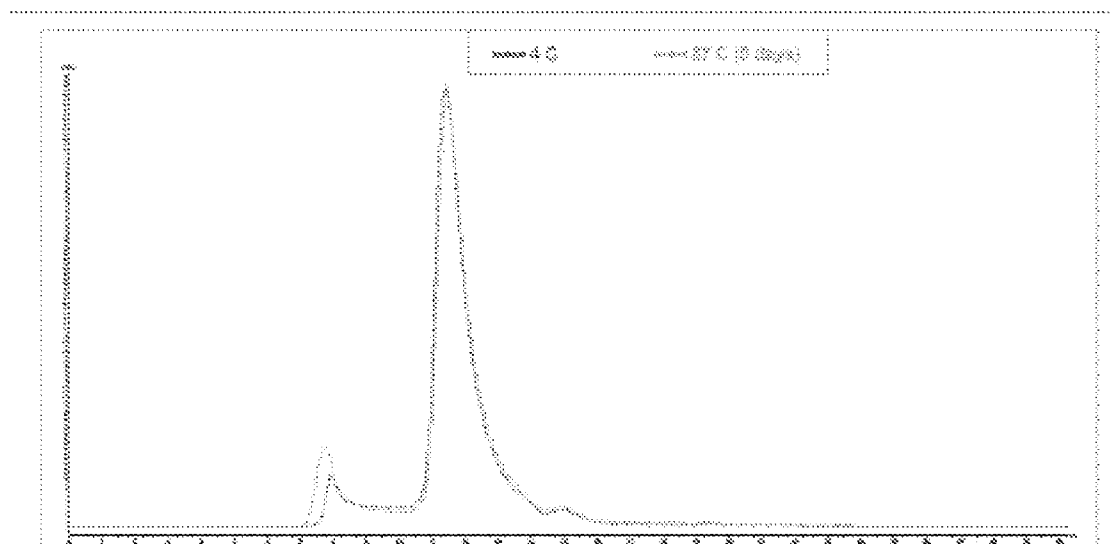
Фиг. 19



Вестерн блот анализ

37/57

Фиг. 20



38/57

Фиг. 21

CUE101-N297A с лидерным пептидом (SEQ ID NO:68)

MYRMQLLSCTALSLALVTNSAPTSSSTKKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLE
EVNLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFV
REFSDAASORMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNOSEAGSHT
VORMYGCDVGSDWRFLRGYHOYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWORDGEDOTODTELVETRPCGDGTFOKWAAVVVPSGOEORYTCHVOHEGLPKPLTLRW
AAAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Лидерная последовательность ИЛ2 человека - курсив

ИЛ-2(Н16А/Ф42А) - жирным шрифтом (с Н16 и Ф42 подчеркнутыми)

(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание

ГКГС Н-цепь Y84A; A236C - двойное подчеркивание (с Y84A и A236C жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; N297A - (жирный шрифт и подчеркивание, N297A не жирным шрифтом)

Фиг. 22

CUE101-N297A без лидерного пептида (SEQ ID NO:69)

APTSSSTKKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLE
EVNLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFV
REFSDAASORMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNOSEAGSHT
VORMYGCDVGSDWRFLRGYHOYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWORDGEDOTODTELVETRPCGDGTFOKWAAVVVPSGOEORYTCHVOHEGLPKPLTLRW
AAAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ИЛ-2(Н16А/Ф42А) - жирным шрифтом (с Н16 и Ф42 подчеркнутыми)

(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание

ГКГС Н-цепь Y84A; A236C - двойное подчеркивание (с Y84A и A236C жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; N297A - (жирный шрифт и подчеркивание, N297A не жирным шрифтом)

Фиг. 23А

CUE101-N297A (SEQ ID NO:70)

1360:

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAGGCAAGTTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACCTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAGGCAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTACATCCGTGTCCCGGCCGCGCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
ACCAGAGCGAGGCCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGTCGGAAGTGGCGC
TTCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCCTGCGGGGATGGAACCTCCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCA
CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCAAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

Фиг. 23В

Лидерная последовательность ИЛ2 человека - курсив
ИЛ2 человека; H16A=GCA; F42A= GCA ; жирный шрифт (GCA подчеркнуто)
(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание
A0201 человека; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC**
AAAGG линкер - одинарное подчеркивание
Fc IgG1 человека; N297A=GCA; AGG в **AGA** (все равно R) и AGC в **TCC** (все равно S)-
(жирный шрифт и подчеркивание, GCA курсивом)
Стоп-кодоны (TAGTGA)

Фиг. 24

CUE101-LALA с лидерным пептидом (SEQ ID NO:71)
MYRMQLLS~~CIALSLALVTNSAPTSSST~~KKTQQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEEELKPLE
EVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ
SIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPFIAVGYYDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGS~~DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLR~~SWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTDTELVETRPCGDGTFOKWA~~AVVVP~~SGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Лидерный пептид - курсив

ИЛ-2(H16A/F42A) - жирным шрифтом (H16 и F42 подчеркнуты)

(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание

ГКГС Н-цепь Y84A; A236C - двойное подчеркивание (Y84A и A236C жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; L234A, L235A - (жирный шрифт и подчеркивание, L234A и L235A не жирным шрифтом)

Фиг. 25

CUE101-LALA без лидерного пептида (SEQ ID NO:72)

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI¹LNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKH²LQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN³VIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGCGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMI⁴LNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKH⁵LQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNIN⁶VIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSI
ISTLTGCGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEP⁷RFIAVG⁸YVDDTQFV
RFDSDAASQRM⁹EPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVK¹⁰AKHSQTHRV¹¹DLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRM¹²YGCDVGS¹³DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ¹⁴TTKH¹⁵KWEAAHVAE
QLRAYLE¹⁶CTC¹⁷VEWLR¹⁸RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTD¹⁹TEL²⁰VETRPCGDGTFQKWA²¹AVVVP²²SGQEQR²³YTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCP²⁴PCPAPEAAGG²⁵PSV²⁶ELFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PFVLDSDGSFFLYSKLTV²⁷DKSRWQ²⁸QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ИЛ-2(H16A/F42A) - жирным шрифтом (H16 иF42 подчеркнуты)

(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание

ГКГС Н-цепь Y84A; A236C - двойное подчеркивание (Y84A и A236C жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; L234A, L235A - (жирный шрифт и подчеркивание, L234A и L235A не жирным шрифтом)

Фиг. 26А (SEQ ID NO: 73)

CUE101-LALA: нуклеотидная последовательность, кодирующая CUE101-LALA с лидерным пептидом

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTACATCCGTGTCCCGCCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCCCTACA
ACCAGAGCGAGGCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTTCGGACTGGCGC
TTCCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGGACCGCGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCCAAAACGCATATGACTCACACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCAGAAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAAAGTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

Фиг. 26В

Лидерная последовательность ИЛ2 человека - курсив
ИЛ2 человека; H16A=GCA; F42A= GCA ; жирный шрифт (GCA подчеркнуто)
(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание
A0201 человека; Y84A=GCC; A236C=TGC - двойное подчеркивание (GCC и TGC жирным шрифтом)
AAAGG линкер - одинарное подчеркивание
Fc IgG1 человека; L234A, L235A=GCCGCC
N297=AAC; AGG в AGA (все равно R) и AGC в TCC (все равно S) – (жирный шрифт и подчеркивание, GCCGCC курсивом)
Стоп-кодона (TAGTGA)

Фиг. 27 (SEQ ID NO: 74)

CUE101-TM с лидерным пептидом

MYRMQLLSSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMINGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSE
TFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMINGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ
SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNOSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHOYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAOTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSEYPAEIT
LTWORDGEDOTDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAGGDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
PFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Лидерный пептид - курсив

ИЛ-2(H16A/F42A) - жирным шрифтом (H16 и F42 подчеркнуты)

(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание

ГКГС Н-цепь Y84A; A236C - двойное подчеркивание (Y84A и A236C жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; L234F, L235E; P331S - (жирный шрифт и подчеркивание, L234F, L235E;

P331S не жирным шрифтом)

Фиг. 28

CUE101-ТМ без лидерного пептида (SEQ ID NO: 75)

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGGGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFSDAASQRMEPRAFWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLRGAYNQSEAGSHT
VORMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLECTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPAEIT
LTWORDGEDQTDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
AAAAGGDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ИЛ-2(Н16А/Ф42А) - жирным шрифтом (Н16 и Ф42 подчеркнуты)

(G4S)4 линкеры - одинарное подчеркивание

ГКГС Н-цепь Y48A; A236C - двойное подчеркивание (Y48A и A236C жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; L234F, L235E; P331S - (жирный шрифт и подчеркивание, L234F, L235E; P331S не жирным шрифтом)

Фиг. 29А (SEQ ID NO:76)

CUE101-TM: нуклеотидная последовательность, кодирующая CUE101-TM с лидерной последовательностью
ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTTGCCTAAGTCTTGCACTTGTCAAAACAGTGCACCTACTTC
AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
GAATTAATAATTACAAGAATCCAAACTCACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCCAAGAAG
GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
AGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAA
ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
CAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
CCCAAACTCACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAA
CATTTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCG
CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGGA
GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTG⁸⁴ CCTGGGGACCCTGCGCGGCCCTACA
ACCAGAGCGAGGCCCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCCGACTGGCGC
TTCCTCCGCGGGTACCACCACTACGCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
CTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCAAGCAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCCAAAACGCATATGACTCACACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCAGAAGTGGGCGG
CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
CCTGAA⁷⁷TCAGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC⁸⁴ACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
AGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCC⁸⁴ATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCTGCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCCGGAGAAC
AACTACAAGACACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATAGTGA

Фиг. 29В

Лидерная последовательность ИЛ2 человека - курсив

ИЛ2 человека; H16A=GCA; F42A= GCA ; жирный шрифт (GCA подчеркнуто)

(G4S)4 линкер - одинарное подчеркивание

A0201 человека; Y84A=**GCC**; A236C=**TGC** - двойное подчеркивание (GCC и TGC жирным шрифтом)

AAAGG линкер - одинарное подчеркивание

Fc IgG1 человека; L234A=TTC, L235A=GAG, P331S=AGC

N297=AAC; AGG в **AGA** (все равно R) и AGC в **TCC** (все равно S)- (жирный шрифт и подчеркивание TTC, GAG, AAC, AGC курсивом)

Стоп-кодоны (TAGTGA)

Фиг. 30

1274: (SEQ ID NO: 77)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAYMLDLQPETTGGGGSGGGSGGGSGGGSIQRTPKIQVYSCHPA
ENGKSNFLNLCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYTFETPTTEK
DEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM

Лидерная последовательность β2М человека - курсивом
E7(11-20) - жирным шрифтом и подчеркнуто
(G4S)3 линкер - одинарное подчеркивание
β2М человека; R12C - двойное подчеркивание (R12C жирным шрифтом)

Фиг. 31

1274 без лидерного пептида (SEQ ID NO: 78)

YMLDLQPETTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSIQRTPKIQVYSCH
FAENGKSNFLNLCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYTFETPTTEKDEY
ACRVNHVTL SQPKIVKWDRDMRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNLCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERI
EKVEHSDLSFSKDWSFYLLYTFETPTTEKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM

E7(11-20) - жирным шрифтом и подчеркнуто (YMLDLQPETT; SEQ ID NO: 13)
(G4S)3 линкер - одинарное подчеркивание (GGGGSGGGSGGGSGGG; SEQ ID NO: 89)
β2М человека; R12C - двойное подчеркивание

Фиг. 32 (SEQ ID NO: 79)

1274 нуклеотидная последовательность, кодирующая 1274 с лидерным пептидом

ATGTCTCGCTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCC**TACATGCTCGA**
TTTGACAGCCCGAAACGACGGGGTGGAGGTGGTTCTGGAGGAGGCGGTTCGGGCGGAGGTGGTAGTATC
CAGCGTACTCCAAAGATT CAGGTTTACTCATG**CCATCCAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCTGAATT**
GCTATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAAAA
AGTGGAGCATT CAGACTTGCTTT CAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGATTATACTGAATTCACCCC
CACTGAAAAAGATGAGTATGCCTGCCGTGTGAACCACGTGACTTTGTCACAGCCCAAGATAGTTAAGTG
GGATCGAGACATGTAGTGA

Лидерная последовательность β2М человека - курсивом
E7(11-20) - жирным шрифтом и подчеркнуто
(G4S)3 линкер - одинарное подчеркивание
β2М человека; R12C = TGC - двойное подчеркивание (TGC жирным шрифтом)
Стоп-кодона TAGTGA

Фиг. 33А

Последовательность Fc IgG1 человека ДТ: (SEO ID NO: 80)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Фиг. 33В

Мутантная последовательность Fc IgG1 человека: L234F/L235E/P331S (тройной мутант «ТМ») (SEO ID NO: 81)

DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPSEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Фиг. 33С

Мутантная последовательность Fc IgG1 человека: N297A (SEO ID NO: 82)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Фиг. 33D

Мутантная последовательность Fc IgG1 человека: L234A/L235A («LALA») (SEO ID NO: 83)

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Последовательности пронумерованы в соответствии с индексом EU (нумерация по Кабату).

Фиг. 34А

B2MR12C (SEQ ID NO:17)

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLL
YYTEFTPTKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM

Фиг. 34В

ИЛ-2 (H16A; F42A) (SEQ ID NO:84)

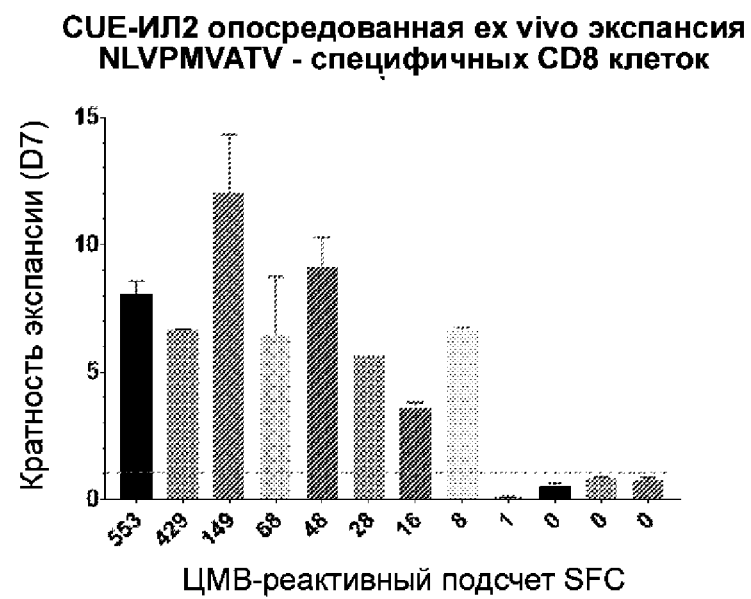
APTSSSTKKTQQLQLEAALLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEBELKP
LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS
TLT

Фиг. 34С

Н-цепь ГКГС класа I A0201 (Y84A; A236C) (SEQ ID NO:19)

GSHSMRYFFT SVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR
KVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDL
RSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVS
DHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPCGDGTFQKWA AVVPSGQEQR YTCH
VQHEGLPKPLTLRWE

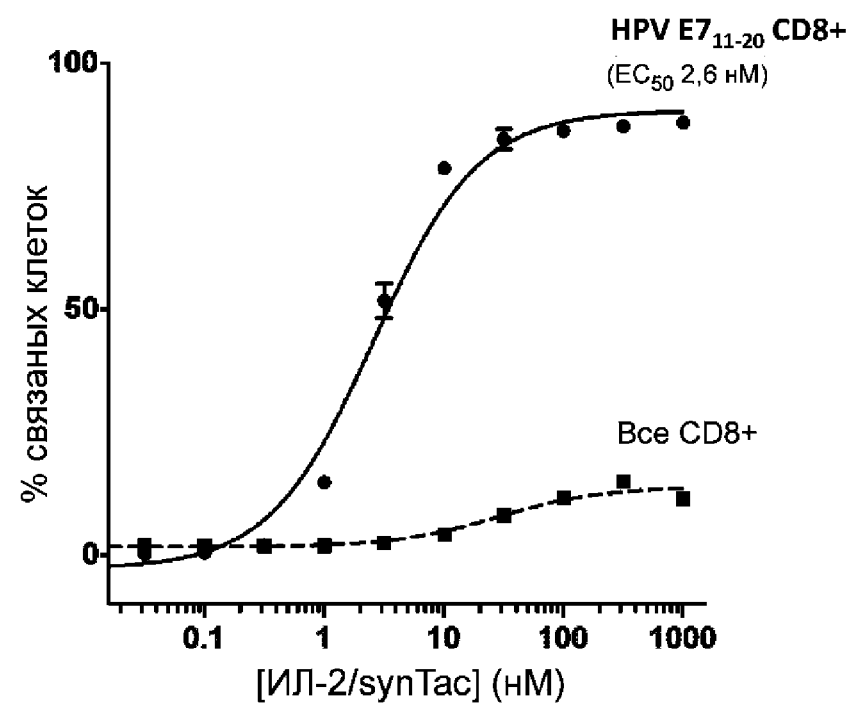
Фиг. 35



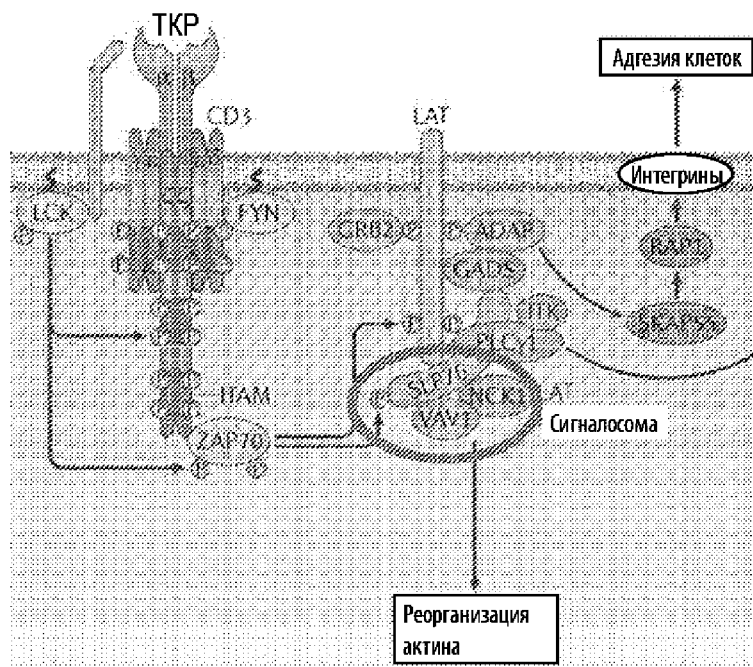
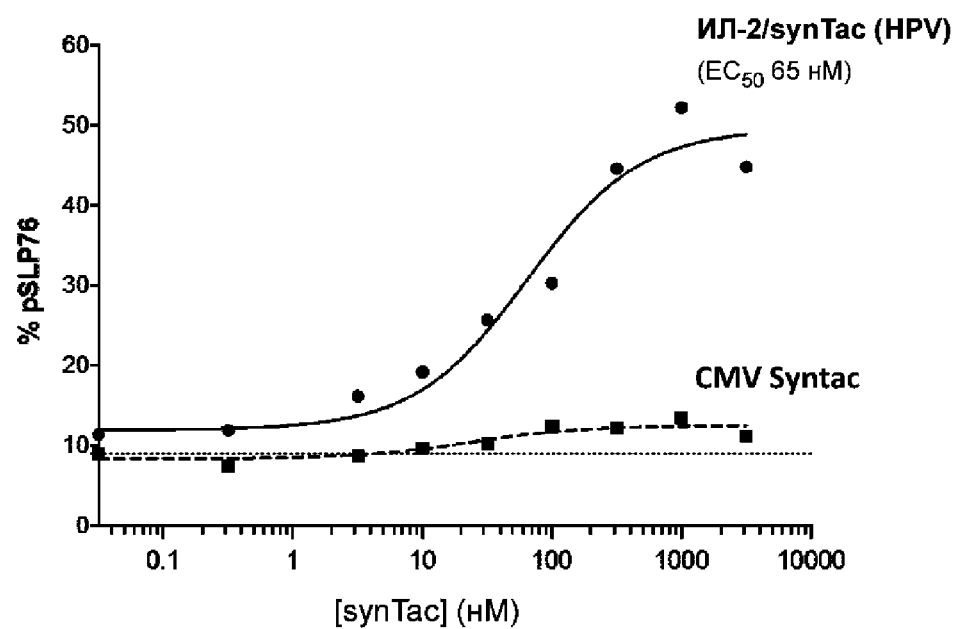
Фиг. 36

Аминокислота	Номер Syntac	Уровень экспрессии (мг/л)	Связывание рецептора Octet (KD в нМ)			EC50 для клеточного связывания, нМ		EC50 для pSTAT5, нМ		
			$\alpha\beta\gamma$	$\beta\gamma$	β	LCMV	Black6	LCMV	Black6	B6/LCMV
H	982	77	14.9			0.25	>100	5.019	57.05	11
A	986	89	16.5			0.22	>100	28.09	543.8	27
R	1284	81	ND			0.29	>100	>1000	>1000	ND
N	1285	50	9.0			0.48	>100	35.19	1041	30
D	1286	31	12.3			0.28	>100	0.8365	15.71	25
C	1287	37	7.6			0.59	>100	59.98	1152	19
Q	1288	66	13.8			0.23	>100	21.64	530.1	24
E	1289	66	13.7			0.31	>100	3.899	117.2	30
G	1290									
I	1291	61	8.4			0.31	>100	>1000	>1000	ND
L	1292	50	12.5			0.38	>100	>1000	>1000	ND
K	1293	74	ND			0.27	>100	>1000	>1000	ND
M	1294	81	19.2			0.41	>100	34.88	674.5	19
F	1295	32	19.6			0.46	>100	4.864	69.1	14
P	1296	2								
S	1297	77	21.2			0.28	>100	14.42	113.4	8
T	1298	123	29.5			0.31	>100	29.68	>1000	>34
W	1299	24	12.6			0.59	>100	70.95	>1000	>14
Y	1300	31	24.4			0.49	>100	16.82	188	11
V	1301	87	7.8			0.28	>100	230.4	>1000	>4

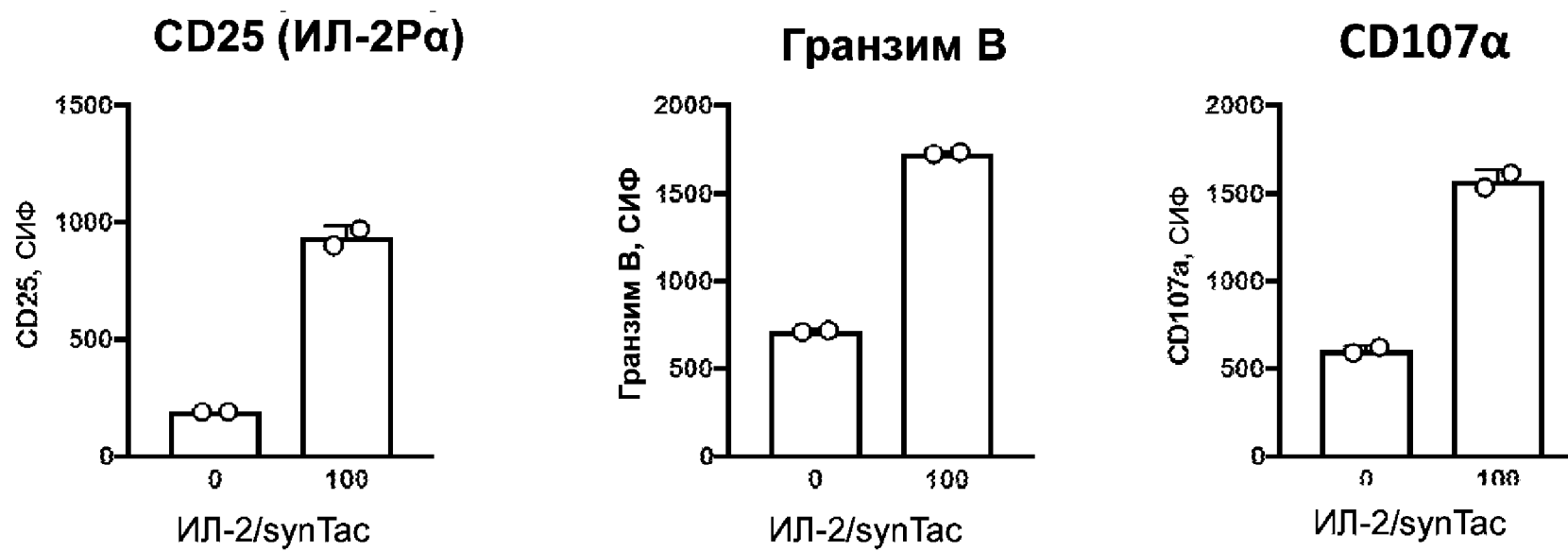
Фиг. 37



Фиг. 38



Фиг. 39



Фиг. 40

