

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036156**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.10.07

(21) Номер заявки
201792467

(22) Дата подачи заявки
2016.04.28

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(54) ГЕТЕРОДИМЕРНЫЕ АНТИТЕЛА, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТ CD3 И ОПУХОЛЕВЫЕ АНТИГЕНЫ

(31) 62/159,111; 62/250,971; 62/251,005;
14/952,714; PCT/US2015/062772

(32) 2015.05.08; 2015.11.04; 2015.11.04;
2015.11.25; 2015.11.25

(33) US

(43) 2018.04.30

(86) PCT/US2016/029797

(87) WO 2016/182751 2016.11.17

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КСЕНКОР, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Мур Грегори, Десларле Джон, Бернетт
Мэттью, Чу Сеунг, Рашид Румана,
Мучхал Умеш, Ли Сунг-Хиунг (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2014145806
US-A1-2014294823
US-A1-2014302064
WO-A2-2016086189
WO-A1-2015149077

"Xencor Provides Data Updates on XmAb Bispecific Antibody Programs and Announces Presentations at Upcoming American Society of Hematology 2014 Annual Meeting", 6 November 2014 (2014-11-06), XP055255549, Retrieved from the Internet: URL: http://files.shareholder.com/downloads/AMDA-2B2V8N/1639829209x0x792404/77590B72-837A-4085-BC55-78FA500638DC/XNCR_News_201411_6_General_Releases.pdf [retrieved on 2016-03-04], the whole document

(57) Изобретение относится к новым гетеродимерным антителам.

B1**036156****036156****B1**

Перекрестные ссылки на родственные заявки

Заявка испрашивает приоритет согласно 35 U.S.C. 119(e) и 120 предварительной заявки на патент США № 62/159111, поданной 8 мая 2015 года, предварительной заявки на патент США № 62/251005, поданной 4 ноября 2015 года, и предварительной заявки на патент США № 62/250971, поданной 4 ноября 2015 года, U.S.S.N. 14/952714, поданной 11 ноября 2015 года и PCT/US2015/062772, поданной 25 ноября 2015 года, все из которых явным образом включены в данный документ посредством ссылки в их полном объеме с конкретной привязкой к фигурам, пояснениям обозначений и пунктам формулы изобретения.

Предпосылки изобретения

Терапевтические средства на основе антител успешно применялись для лечения целого ряда заболеваний, включая рак и аутоиммунные/воспалительные нарушения. Тем не менее усовершенствование этого класса лекарственных средств все еще необходимо, особенно в отношении повышения их клинической эффективности. Один перспективный аспект заключается в конструировании дополнительных и новых антигенсвязывающих участков в лекарственных средствах на основе антител, так что одна молекула иммуноглобулина одновременно контактирует с двумя разными антигенами. Такие ненативные или альтернативные форматы антител, которые контактируют с двумя разными антигенами, часто называют биспецифическими. Поскольку значительное разнообразие вариабельной области (Fv) антитела позволяет получить Fv, которая распознает практически любую молекулу, типичным подходом к созданию биспецифического антитела является введение новых вариабельных областей в антитело.

Ряд альтернативных форматов антител был исследован в отношении биспецифического целенаправленного воздействия (Chames & Baty, 2009, mAbs 1[6]:1-9; Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; Kontermann, mAbs 4(2):182 (2012), все из которых явным образом включены в данный документ посредством ссылки). Первоначально биспецифические антитела получали путем слияния двух клеточных линий, каждая из которых вырабатывала одно моноклональное антитело (Milstein et al., 1983, Nature 305:537-540). Хотя полученная гибридная гибридома, или квадрома, действительно вырабатывала биспецифические антитела, они представляли собой только незначительную популяцию, и для выделения желаемого антитела требовалась длительная очистка. Техническим решением для этого было применение фрагментов антител для получения биспецифических антител. Поскольку у таких фрагментов отсутствует сложная четвертичная структура, характерная для полноразмерного антитела, вариабельные области легких и тяжелых цепей могут быть связаны в единых генетических конструкциях. Были получены фрагменты антител многих различных форм, включая диатела, одноцепочечные диатела, тандемные scFv и биспецифические Fab₂ (Chames & Baty, 2009, mAbs 1[6]:1-9; Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; явным образом включена в данный документ посредством ссылки). Хотя эти форматы могут экспрессироваться на высоких уровнях в бактериях и могут иметь благоприятные преимущества в отношении проникновения благодаря их небольшому размеру, они быстро устраняются *in vivo* и могут представлять сложности при производстве, связанные с их получением и стабильностью. Основной причиной этих недостатков является то, что фрагменты антител обычно не имеют константной области антитела с соответствующими функциональными свойствами, включая большой размер, высокую стабильность и связывание с различными Fc-рецепторами и лигандами, которые сохраняют длительный период полужизни в сыворотке (т.е. неонатальный Fc-рецептор FcRn) или служат в качестве участков связывания для очистки (т.е. белок A и белок G).

В более поздней работе были предприняты попытки устранить недостатки биспецифических антител на основе фрагментов путем конструирования двойного связывания в подобных полноразмерному антителу форматах (Wu et al., 2007, Nature Biotechnology 25[11]:1290-1297; USSN12/477,711; Michaelson et al., 2009, mAbs 1[2]:128-141; PCT/US2008/074693; Zuo et al., 2000, Protein Engineering 13[5]:361-367; USSN09/865, 198; Shen et al., 2006, J Biol Chem 281[16]:10706-10714; Lu et al., 2005, J Biol Chem 280[20]:19665-19672; PCT/US2005/025472; явным образом включены в данный документ посредством ссылки). Эти форматы обеспечивают устранение некоторых из сложностей, связанных с биспецифическими фрагментами антител, главным образом в следствие того, что они содержат Fc-область. Одним из существенных недостатков этих форматов является то, что поскольку они создают новые антигенсвязывающие участки сверху гомодимерных константных цепей, связывание с новым антигеном всегда является бивалентным.

Для многих антигенов, которые являются привлекательными в качестве совместных мишеней в терапевтическом биспецифическом формате, желаемое связывание является моновалентным, а не бивалентным. Для многих иммунных рецепторов клеточная активация осуществляется путем перекрестного связывания моновалентного связывающего взаимодействия. Механизм перекрестного связывания, как правило, опосредуется иммунными комплексами антитело/антиген или через эффекторную клетку с вовлечением клетки-мишени. Например, низкоаффинные Fc-гамма-рецепторы (FcγR), такие как FcγRIIa, FcγRIIb и FcγRIIIa, моновалентно связываются с Fc-областью антитела. Моновалентное связывание не активирует клетки, экспрессирующие эти FcγR; однако при образовании иммунных комплексов или межклеточном контакте рецепторы перекрестно связываются и кластеризуются на поверхности клетки, что приводит к активации. Для рецепторов, ответственных за опосредование уничтожения клеток, на-

пример, FcγRIIIa на естественных клетках-киллерах (NK), перекрестное связывание рецепторов и клеточная активация имеют место, когда эффекторная клетка контактирует с клеткой-мишенью в высоко avidном формате (Bowles & Weiner, 2005, *J Immunol Methods* 304:88-99, явным образом включена посредством ссылки). Аналогичным образом, на В-клетках ингибиторный рецептор FcγRIIb подавляет активацию В-клетки только в том случае, когда она вовлечена в иммунный комплекс с рецептором В-клеток (BCR) на клеточной поверхности, механизм, который опосредуется образованием комплексов растворимых IgG с тем же антигеном, который распознается BCR (Heyman 2003, *Immunol Lett* 88[2]:157-161; Smith and Clatworthy, 2010, *Nature Reviews Immunology* 10:328-343; явным образом включена посредством ссылки). В качестве другого примера, активация Т-клеток с помощью CD3 происходит только в случае, когда ассоциированный с ними Т-клеточный рецептор (TCR) вовлечен в нагруженный антигеном МНС на антигенпрезентирующих клетках в высоко avidном межклеточном синапсе (Kuhns et al., 2006, *Immunity* 24:133-139).

Действительно, неспецифическое бивалентное перекрестное связывание CD3 с использованием антитела к CD3 вызывает цитокиновую бурю и токсичность (Perruche et al., 2009, *J Immunol* 183[2]:953-61; Chatenoud & Bluestone, 2007, *Nature Reviews Immunology* 7:622-632; явным образом включена посредством ссылки). Таким образом, для практического клинического применения предпочтительной формой совместного контакта с CD3 для перенаправленного уничтожения клеток-мишеней является моновалентное связывание, которое приводит к активации только при контакте с совместно вовлеченной мишенью.

CD38, также известный как гидролаза циклической ADP-рибозы, представляет собой трансмембранный гликопротеин II типа с длинным С-концевым внеклеточным доменом и коротким N-концевым цитоплазматическим доменом. Среди гемопоэтических клеток к CD38-опосредованной передаче сигналов был отнесен ряд функциональных эффектов, включая пролиферацию лимфоцитов, высвобождение цитокинов, регуляцию развития и выживаемости В-клеток и миелоидных клеток, а также индукцию созревания дендритных клеток. Регуляция CD38 нарушена при многих злокачественных новообразованиях гемопоэтической системы и в клеточных линиях, полученных из различных злокачественных новообразований гемопоэтической системы, включая неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Беркитта (BL), множественную миелому (MM), В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз (В-CLL), В- и Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), Т-клеточную лимфому (TCL), острый миелоидный лейкоз (AML), волосатоклеточный лейкоз (HCL), лимфому Ходжкина (HL) и хронический миелоидный лейкоз (CML). С другой стороны, большинство примитивных плюрипотентных стволовых клеток гемопоэтической системы являются CD38-. Несмотря на недавний прогресс в обнаружении и разработке противораковых средств, многие формы рака, включая CD38-экспрессирующие опухоли, все еще имеют неблагоприятный прогноз. Таким образом, существует потребность в улучшенных способах лечения таких форм рака.

В-клеточный антиген CD19 (CD19, также известный как В-клеточный поверхностный антиген B4, Leu-12) является поверхностным маркером всех В-клеток человека, который экспрессируется с ранних стадий развития пре-В-клеток до терминальной дифференцировки в плазматические клетки. CD19 способствует пролиферации и выживанию зрелых В-клеток. Он объединяется в комплекс с CD21 на поверхности клетки. Он также объединяется с CD81 и Leu-13 и потенцирует передачу сигнала В-клеточного рецептора (BCR). CD19 вместе с BCR модулирует контрольные точки передачи внутренних и индуцированных рецептором к антигену сигналов, критичных для клонального размножения В-клеток и гуморального иммунитета. Совместно с CD21 он связывает адаптивную и врожденную иммунную систему. После активации цитоплазматический хвост CD19 становится фосфорилированным, что приводит к связыванию киназами семейства Src и привлечению PI-3-киназы. Он представляет собой привлекательную мишень для иммунотерапии рака лимфоидного происхождения, поскольку экспрессируется и на подавляющем большинстве клеток NHL, а также при некоторых формах лейкоза.

Ряд антител или конъюгатов антител, которые нацелены на CD19, были оценены в доклинических исследованиях или в клинических испытаниях для лечения форм рака. Эти антитела или конъюгаты антител к CD19 включают в себя без ограничения MT-103 (одноцепочечное биспецифическое антитело к CD19/CD3; Hoffman et al., 2005 *Int. J. Cancer* 115:98-104; Schlereth et al., 2006 *Cancer Immunol. Immunother.* 55:503-514), диатело к CD19/CD16 (Schlenzka et al., 2004 *Anti-cancer Drugs* 15:915-919; Kipriyanov et al., 2002 *J Immunol.* 169:137-144), B1L2-сапорин (Flavell et al., 1995 *Br. J. Cancer* 72:1373-1379) и конъюгат антитела к CD19 и идарубицина (Rowland et al., 1993 *Cancer Immunol. Immunother.* 55:503-514); все явным образом включены посредством ссылки.

CD123, также известный как рецептор интерлейкина-3 альфа (IL-3Ra), экспрессируется на дендритных клетках, моноцитах, эозинофилах и базофилах. CD123 также конститутивно экспрессируется коммитированными гемопоэтическими стволовыми клетками/клетками-предшественниками, большинством миелоидных линий (CD13+, CD14+, CD33+, CD15low) и некоторыми CD19+ клетками. Он отсутствует на клетках CD3+.

Таким образом, в то время как биспецифические антитела, полученные из фрагментов антител, ис-

пытают недостатки в отношении биофизических и фармакокинетических свойств, недостатком анти-тел, созданных в форматах, подобных полноразмерному антителу, является то, что они контактируют с общими антигенами-мишенями поливалентно в отсутствие первичного антигена-мишени, приводя к неспецифической активации и потенциальной токсичности. Настоящее изобретение позволяет решить эту проблему путем введения новых биспецифических антител, направленных на CD3 и CD38.

Краткое описание изобретения

Соответственно, в одном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный домен тяжелой цепи; 2) первый константный домен тяжелой цепи, содержащий первый Fc-домен; 3) scFv, содержащий переменный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и переменный домен scFv тяжелой цепи; где указанный scFv ковалентно соединен с C-концом указанного Fc-домена с помощью междоменного линкера; б) второй мономер, содержащий вторую тяжелую цепь, содержащую второй переменный домен тяжелой цепи и второй константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и с) общую легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный домен тяжелой цепи; 2) первый константный домен тяжелой цепи, содержащий первый Fc-домен; и 3) первый переменный домен легкой цепи, где указанный первый переменный домен легкой цепи ковалентно соединен с C-концом указанного первого Fc-домена с помощью междоменного линкера; б) второй мономер, содержащий: i) второй переменный домен тяжелой цепи; ii) второй константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и iii) третий переменный домен тяжелой цепи, где указанный второй переменный домен тяжелой цепи ковалентно соединен с C-концом указанного второго Fc-домена с помощью междоменного линкера; с) общую легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный домен тяжелой цепи; 2) первый константный домен тяжелой цепи, содержащий первый CH1-домен и первый Fc-домен; 3) scFv, содержащий переменный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и переменный домен scFv тяжелой цепи; где указанный scFv ковалентно присоединен между C-концом указанного CH1-домена и N-концом указанного первого Fc-домена с помощью междоменных линкеров; б) второй мономер, содержащий вторую тяжелую цепь, содержащую второй переменный домен тяжелой цепи и второй константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и с) общую легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный домен тяжелой цепи; 2) первый константный домен тяжелой цепи, содержащий первый Fc-домен; и 3) первый переменный домен легкой цепи, где указанный второй переменный домен легкой цепи ковалентно присоединен между C-концом CH1-домена указанного первого константного домена тяжелой цепи и N-концом указанного первого Fc-домена с помощью междоменных линкеров; б) второй мономер, содержащий: i) второй переменный домен тяжелой цепи; ii) второй константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и iii) третий переменный домен тяжелой цепи, где указанный второй переменный домен тяжелой цепи ковалентно соединен с C-концом указанного второго Fc-домена с помощью междоменного линкера; с) общую легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный домен тяжелой цепи; 2) первый константный домен тяжелой цепи, содержащий первый CH1-домен и первый Fc-домен; 3) scFv, содержащий переменный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и переменный домен scFv тяжелой цепи; где указанный scFv ковалентно присоединен между C-концом указанного CH1-домена и N-концом указанного первого Fc-домена с помощью междоменных линкеров; б) второй мономер, содержащий второй Fc-домен; и с) легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи.

В некоторых аспектах первый и второй Fc-домены предусматривают набор аминокислотных замен, выбранный из группы, состоящей из S364K/E357Q; L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q. Кроме того, переменный домен(домены) тяжелой цепи и переменный домен(домены) легкой цепи связывают первый опухолевый антиген-мишень (ТТА), scFv связывает второй ТТА или CD3 человека. В некоторых вариантах осуществления ТТА выбирают из группы, состоящей из CD19, CD20 и CD123.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает антигенсвязывающие домены антитела к CD3, содержащие последовательности CDR и/или переменных доменов и/или scFv, изображенные на фигурах для H1.32_L1.47, H1.89_L1.47, H1.90_L1.47, H1.33_L1.47 и H1.31_L1.47. Настоящее

изобретение дополнительно предусматривает композиции нуклеиновых кислот, композиции векторов экспрессии и клетки-хозяева.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие а) первый мономер, содержащий: i) первый Fc-домен; ii) scFv к CD3, содержащий переменный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и переменный домен scFv тяжелой цепи; где указанный scFv ковалентно соединен с N-концом указанного Fc-домена с помощью междоменного линкера; б) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) переменный домен тяжелой цепи и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и с) легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и переменный константный домен легкой цепи; где scFv к CD3 выбран из группы, состоящей из H1.32_L1.47, связывающейся с CD3, H1.89_L1.47, связывающейся с CD3, H1.90_L1.47, связывающейся с CD3 и H1.33_L1.47, связывающейся с CD3 (SEQ ID NO:XX). Переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи связывают TTA (включая без ограничения CD19, CD20, CD38 и CD123).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает связывающие домены антитела к CD20, содержащие а) переменный домен легкой цепи, содержащий vLCDR1, имеющий последовательность RASWSVSYIH (SEQ ID NO:XX), vLCDR2, имеющий последовательность ATSNLAS (SEQ ID NO:XX), и vLCDR3, имеющий последовательность QQWTHNPPT (SEQ ID NO:XX); и б) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, имеющий последовательность SYNMH (SEQ ID NO:XX), vhCDR2, имеющий последовательность AIYPGNGATSYQKFQG (SEQ ID NO:XX), и vhCDR3, имеющий последовательность SYYMGGDWYFDV (SEQ ID NO:XX). В некоторых вариантах осуществления связывающие домены антитела к CD20 имеют последовательности C2B8 H1.202_L1.113.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает связывающие домены антитела к CD20, содержащие: а) переменный домен легкой цепи, содержащий vLCDR1, имеющий последовательность RASSSVSYIH (SEQ ID NO:XX), vLCDR2, имеющий последовательность ATSNLAS (SEQ ID NO:XX), и vLCDR3, имеющий последовательность QQWTSNPPT (SEQ ID NO:XX); и б) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, имеющий последовательность SYNMH (SEQ ID NO:XX), vhCDR2, имеющий последовательность AIYPGNGDTSYNQKFQG (SEQ ID NO:XX), и vhCDR3, имеющий последовательность STYYGGDWYFNV (SEQ ID NO:XX).

В некоторых вариантах осуществления связывающие домены антитела к CD20 имеют последовательности C2B8_H1L1.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие а) первый мономер, содержащий: i) первый Fc-домен; ii) scFv к CD3, содержащий переменный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и переменный домен scFv тяжелой цепи; где указанный scFv ковалентно соединен с N-концом указанного Fc-домена с помощью междоменного линкера; б) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) переменный домен тяжелой цепи и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и с) легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и переменный константный домен легкой цепи, где переменные домены тяжелой и легкой цепей образуют связывающий домен C2B8 H1.202_L1.113 или C2B8_H1L1.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие а) первый мономер, содержащий: i) первый Fc-домен; ii) scFv к CD3, содержащий переменный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и переменный домен scFv тяжелой цепи; где указанный scFv ковалентно соединен с N-концом указанного Fc-домена с помощью междоменного линкера; б) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) переменный домен тяжелой цепи и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен; и с) легкую цепь, содержащую переменный домен легкой цепи и переменный константный домен легкой цепи. В данном варианте осуществления переменные домены связывают CD123 и могут иметь последовательности 7G3_H1.109_L1.47.

В дополнительных аспектах настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, выбранные из группы, состоящей из XENP15049, XENP15051; XENP15050, XENP13676, XENP14696, XENP15629, XENP15053, XENP15630, XENP15631, XENP15632, XENP15633, XENP15634, XENP15635, XENP15636, XENP15638, XENP15639, XENP13677, XENP14388, XENP14389, XENP14390, XENP14391, XENP14392, XENP14393, XENP16366, XENP16367, XENP16368, XENP16369, XENP16370, XENP16371, XENP16372, XENP16373, XENP16375, XENP16376, XENP16377, XENP14045 и XENP13928. Нуклеиновые кислоты, векторы экспрессии и клетки-хозяева также предусматриваются в дополнение к способам получения этих белков и лечения пациентов с их помощью.

В дополнительных аспектах настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие набор из 6 CDR (vhCDR1, vhCDR2, vhCDR3, vLCDR1, vLCDR2 и vLCDR3) из переменных областей одного из антигенсвязывающих доменов гетеродимерного антитела, выбранного из группы, состоящей из XENP15049, XENP15051; XENP15050, XENP13676, XENP14696, XENP15629, XENP15053, XENP15630, XENP15631, XENP15632, XENP15633, XENP15634, XENP15635, XENP15636, XENP15638, XENP15639, XENP13677, XENP14388, XENP14389, XENP14390, XENP14391, XENP14392, XENP14393, XENP16366, XENP16367, XENP16368, XENP16369, XENP16370, XENP16371, XENP16372, XENP16373, XENP16375, XENP16376, XENP16377, XENP14045 и XENP13928. Нуклеиновые кислоты, векторы экс-

прессии и клетки-хозяева также предусматриваются в дополнение к способам получения этих белков и лечения пациентов с их помощью.

В дополнительных аспектах настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие два набора CDR, при этом первый набор состоит из каждой из 6 CDR (vhCDR1, vhCDR2, vhCDR3, vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3) из вариабельных областей одного из антигенсвязывающих доменов, а второй набор происходит из вариабельных областей другого, при этом второй антигенсвязывающий домен гетеродимерного антитела выбран из группы, состоящей из XENP15049, XENP15051; XENP15050, XENP13676, XENP14696, XENP15629, XENP15053, XENP15630, XENP15631, XENP15632, XENP15633, XENP15634, XENP15635, XENP15636, XENP15638, XENP15639, XENP13677, XENP14388, XENP14389, XENP14390, XENP14391, XENP14392, XENP14393, XENP16366, XENP16367, XENP16368, XENP16369, XENP16370, XENP16371, XENP16372, XENP16373, XENP16375, XENP16376, XENP16377, XENP14045 и XENP13928. Нуклеиновые кислоты, векторы экспрессии и клетки-хозяева также предусматриваются в дополнение к способам получения этих белков и лечения пациентов с их помощью.

В дополнительных аспектах настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, содержащие два набора vh- и vl-доменов, при этом первый набор состоит из вариабельных областей одного из антигенсвязывающих доменов, а второй набор состоит из вариабельных областей другого, причем второй антигенсвязывающий домен гетеродимерного антитела выбран из группы, состоящей из XENP15049, XENP15051; XENP15050, XENP13676, XENP14696, XENP15629, XENP15053, XENP15630, XENP15631, XENP15632, XENP15633, XENP15634, XENP15635, XENP15636, XENP15638, XENP15639, XENP13677, XENP14388, XENP14389, XENP14390, XENP14391, XENP14392, XENP14393, XENP16366, XENP16367, XENP16368, XENP16369, XENP16370, XENP16371, XENP16372, XENP16373, XENP16375, XENP16376, XENP16377, XENP14045 и XENP13928. Нуклеиновые кислоты, векторы экспрессии и клетки-хозяева также предусматриваются в дополнение к способам получения этих белков и лечения пациентов с их помощью.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1A, 1B и 1C изображены некоторые форматы по настоящему изобретению. Представлены две формы формата "открывалка", одна с антигенсвязывающим доменом антитела к CD3, содержащим scFv, и доменом, связывающимся с ТТА, содержащим Fab, и другая с этими компонентами, поменянными местами. Показаны все форматы mAb-Fv, mAb-scFv, с центральным scFv и центральным Fv. Хотя они представлены как имеющие домен антитела к CD3 в виде scFv, как обсуждается в данном документе, любые последовательности Fv могут быть отсоединены и присоединены; так что домены антитела к CD3 и антитела к ТТА из mAb-Fv, mAb-scFv, центрального scFv и центрального Fv могут быть поменяны местами. Кроме того, показаны "неполные" форматы, где только один мономер содержит Fc-домен, как с неполным центральным scFv, так и с неполным центральным Fv. Формат с двойным scFv также показан.

На фиг. 2 изображены последовательности конструкции "с высокой аффинностью к CD3" anti-CD3_H1.30_L1.47, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных vl и vhCDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание). Как справедливо для всех последовательностей, изображенных на фигурах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, если это необходимо.

На фиг. 3 изображены последовательности конструкции "с аффинностью от высокой до средней №1" Anti-CD3_H1.32_L1.47, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных vl и vhCDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание). Как справедливо для всех последовательностей, изображенных на фигурах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, если это необходимо.

На фиг. 4 изображены последовательности конструкции "с аффинностью от высокой до средней №2" Anti-CD3_H1.89_L1.47, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных vl и vhCDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание). Как справедливо для всех последовательностей, изображенных на фигурах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, если это необходимо.

На фиг. 5 изображены последовательности конструкции "с аффинностью от высокой до средней №3" Anti-CD3_H1.90_L1.47, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных vl и vhCDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание). Как справедливо для всех последовательностей, изображенных на фигурах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, если это необходимо.

На фиг. 6 изображены последовательности конструкции "со средней аффинностью" Anti-CD3_H1.90_L1.47, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных vl и vhCDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание). Как справедливо для всех последовательностей, изображенных на фигурах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, если это необходимо.

На фиг. 7 изображены последовательности конструкции "с низкой аффинностью" Anti-CD3_H1.31_L1.47, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных v_l и v_h CDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание). Как справедливо для всех последовательностей, изображенных на фигурах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, если это необходимо.

На фиг. 8 изображены последовательности конструкции "с высокой аффинностью к CD38": OKT10_H1.77_L1.24, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных v_l и v_h CDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание).

На фиг. 9 изображены последовательности конструкции "со средней аффинностью к CD38": OKT10_H1L1.24, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных v_l и v_h CDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание).

На фиг. 10 изображены последовательности конструкции "с низкой аффинностью к CD38": OKT10_H1L1, включая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей (CDR подчеркнуты), а также отдельных v_l и v_h CDR, а также конструкции scFv с заряженным линкером (двойное подчеркивание).

На фиг. 11 изображены последовательности XENP15331.

На фиг. 12 изображены последовательности XENP13243.

На фиг. 13 изображены последовательности XENP14702.

На фиг. 14 изображены последовательности XENP15426.

На фиг. 15 изображены последовательности XENP14701.

На фиг. 16 изображена последовательность XENP14703.

На фиг. 17 изображена последовательность XENP13243.

На фиг. 18 изображены последовательности XENP18967.

На фиг. 19 изображены последовательности XENP18971.

На фиг. 20 изображены последовательности XENP18969.

На фиг. 21 изображены последовательности XENP18970.

На фиг. 22 изображены последовательности XENP18972.

На фиг. 23 изображены последовательности XENP18973.

На фиг. 24 изображены последовательности XENP15055.

На фиг. 25 изображены последовательности XENP13544.

На фиг. 26 изображены последовательности XENP13694.

На фиг. 27 изображена последовательность человеческого CD3 ε.

На фиг. 28 изображен полноразмерный (SEQ ID NO:130) и внеклеточный домены (ECD; SEQ ID NO:131) белка CD38 человека.

На фиг. 29А-29Е изображены пригодные пары наборов вариантов гетеродимеризации (включая асимметричные и варианты с измененной pI). На фиг. 29Е представлены варианты, для которых не существует соответствующих вариантов "мономера 2"; это варианты с измененной pI, которые могут применяться сами по себе на любом мономере или быть включенными в сторону Fab "открывалки", например, а соответствующим образом заряженный линкер scFv может применяться на втором мономере, в котором scFv используется в качестве второго антигенсвязывающего домена. Подходящие заряженные линкеры показаны на фиг. 33.

На фиг. 30 изображен перечень константных областей изостерических вариантов антител и их соответствующие замены, pI₋ (-) обозначает варианты с более низкой pI, тогда как pI₊ (+) обозначает варианты с более высокой pI. Их можно необязательно и независимо комбинировать с другими вариантами гетеродимеризации по настоящему изобретению (а также другими типами вариантов, как описано в данном документе).

На фиг. 31 изображены пригодные варианты с нарушением, у которых нарушено связывание с FcγR (иногда называемые "нокаутными" или "КО" вариантами).

На фиг. 32 показаны два особенно пригодных варианта осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 33 изображен ряд заряженных линкеров scFv, которые находят применение в повышении или снижении pI гетеродимерных антител, в которых в качестве компонента применяют один или несколько scFv. (+Н) положительный линкер находит особое применение в данном документе, в частности, для последовательностей v_l и v_h антитела к CD3, показанных в данном документе. Один линкер scFv из уровня техники с одиночным зарядом упоминается как "Whitlow" из Whitlow et al., Protein Engineering 6(8):989-995 (1993). Следует отметить, что этот линкер применяли для уменьшения агрегации и повышения протеолитической стабильности scFv.

На фиг. 34 изображен перечень сконструированных с асимметрией гетеродимерных Fc-вариантов со значениями выхода гетеродимера (определенным с помощью HPLC-CIEX) и термостабильности (определенной с помощью DSC). Не определенная термостабильность обозначена как "n.d".

Фиг. 35. Значения выхода экспрессии биспецифических антител после аффинной очистки с применением белка А.

Фиг. 36. Хроматограммы катионообменной очистки.

Фиг. 37. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч. инкубации, 10 тысяч клеток RPMI8226, 400 тысяч Т-клеток. Тестируемые препараты представляют собой биспецифические антитела к CD38 × CD3. Обнаружение проводили с помощью LDH.

Фиг. 38. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч. инкубации, 10 тысяч клеток RPMI8226, 500 тысяч PBMC человека. Тестируемые препараты представляют собой биспецифические антитела к CD38 × CD3. Обнаружение проводили с помощью LDH.

На фиг. 39 изображены последовательности XENP14419.

На фиг. 40 изображены последовательности XENP14420.

На фиг. 41 изображены последовательности XENP14421.

На фиг. 42 изображены последовательности XENP14422.

На фиг. 43 изображены последовательности XENP14423.

Фиг. 44. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 96 ч. инкубации, 40 тысяч клеток RPMI8226, 400 тысяч PBMC человека. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD38 × CD3. Обнаружение проводили методом проточной цитометрии, в частности, в отношении исчезновения CD38+ клеток.

Фиг. 45. Дополнительное исследование результатов анализа перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, описанного на фиг. 1. В первом ряду показана средняя интенсивность флуоресценции (MFI) маркера активации CD69 на CD4+ и CD8+ Т-клетках, определяемая с помощью проточной цитометрии. Во втором ряду показана процентная доля CD4+ и CD8+ Т-клеток, которые являются Ki-67+, что является критерием клеточной пролиферации. В третьем ряду показана внутриклеточная средняя интенсивность флуоресценции (MFI) ингибитора гранзима В PI-9 на CD4+ и CD8+ Т-клетках, определяемая с помощью проточной цитометрии.

Фиг. 46. Дизайн исследования на мышах для изучения противоопухолевой активности биспецифических антител Fab-scFv-Fc к CD38 × CD3.

Фиг. 47. Размер опухоли, измеренный с помощью IVIS®, в зависимости от времени и лечения.

Фиг. 48. Биоломинесцентные изображения IVIS® (день 10)

Фиг. 49. Истощение популяции CD38⁺ клеток у яванских макаков после однократных доз указанных препаратов.

Фиг. 50. Активация Т-клеток, измеренная по средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD69 у яванских макаков, цветная маркировка, как на фиг. 49.

Фиг. 51. Уровни IL-6 в сыворотке после однократных доз указанных тестируемых препаратов.

На фиг. 52 изображены последовательности XENP15427.

На фиг. 53 изображены последовательности XENP15428.

На фиг. 54 изображены последовательности XENP15429.

На фиг. 55 изображены последовательности XENP15430.

На фиг. 56 изображены последовательности XENP15431.

На фиг. 57 изображены последовательности XENP15432.

На фиг. 58 изображены последовательности XENP15433.

На фиг. 59 изображены последовательности XENP15434.

На фиг. 60 изображены последовательности XENP15435.

На фиг. 61 изображены последовательности XENP15436.

На фиг. 62 изображены последовательности XENP15437.

На фиг. 63 изображены последовательности XENP15438.

На фиг. 64 показаны значения аффинности связывания в анализе Biacore.

На фиг. 65 показана чистота гетеродимера при генерации стабильного пула с применением различных соотношений легкой цепи, Fab-Fc и scFv-Fc.

Фиг. 66. Истощение IgM и IgG2 человека биспецифическими антителами к CD38 × CD3 на мышинной модели с huPBMC.

На фиг. 67 изображен оптимизированный по стабильности гуманизированный вариант scFv к CD3. Замены даны относительно последовательности scFv H1_L1.4. Нумерация аминокислот представляет собой нумерацию по Kabat.

Фиг. 68. Аминокислотные последовательности оптимизированного по стабильности гуманизированного варианта scFv к CD3. CDR подчеркнуты. Для каждой комбинации тяжелой цепи/легкой цепи перечислены четыре последовательности: (i) scFv с С-концевой 6xHis-меткой, (ii) только scFv, (iii) только VH, (iv) только VL.

Фиг. 69. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч инкубации, 10 тысяч клеток RPMI8226, 500 тысяч PBMC. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD38 (OKT10_H1L1, OKT10_H1.77_L1.24) × CD3. Обнаружение проводили с помощью LDH.

Фиг. 70. Исследование Ig-истощения huPBL-SCID.

Тестируемые препараты вводили через 8 дней после прививания PBMC в дозе 0,03, 0,3 или 3 мг/кг. Путь введения был внутрибрюшинным. Образцы крови брали через 14 дней после прививания PBMC,

обрабатывали с получением сыворотки и анализировали на предмет IgM и IgG2 человека.

На фиг. 71 изображены последовательности XENP15049.

На фиг. 72 изображены последовательности XENP15051.

На фиг. 73 изображены последовательности XENP15050.

На фиг. 74 изображены последовательности XENP13676.

На фиг. 75 изображены последовательности XENP14696.

На фиг. 76 изображены последовательности XENP15629.

На фиг. 77 изображены последовательности XENP15053.

На фиг. 78 изображены последовательности XENP15630.

На фиг. 79 изображены последовательности XENP15631.

На фиг. 80 изображены последовательности XENP15632.

На фиг. 81 изображены последовательности XENP15633.

На фиг. 82 изображены последовательности XENP15634.

На фиг. 83 изображены последовательности XENP15635.

На фиг. 84 изображены последовательности XENP15636.

На фиг. 85 изображены последовательности XENP15638.

На фиг. 86 изображены последовательности XENP15639.

На фиг. 87 изображены последовательности XENP13677.

На фиг. 88 изображены последовательности XENP14388.

На фиг. 89 изображены последовательности XENP14389.

На фиг. 90 изображены последовательности XENP14390.

На фиг. 91 изображены последовательности XENP14391.

На фиг. 92 изображены последовательности XENP14392.

На фиг. 93 изображены последовательности XENP14393.

На фиг. 94 изображены последовательности XENP16366.

На фиг. 95 изображены последовательности XENP16367.

На фиг. 96 изображены последовательности XENP16368.

На фиг. 97 изображены последовательности XENP16369.

На фиг. 98 изображены последовательности XENP16370.

На фиг. 99 изображены последовательности XENP16371.

На фиг. 100 изображены последовательности XENP16372.

На фиг. 101 изображены последовательности XENP16373.

На фиг. 102 изображены последовательности XENP16374.

На фиг. 103 изображены последовательности XENP16375.

На фиг. 104 изображены последовательности XENP16376. CDR, последовательности *vh* и *vl* плеча Fab антитела к CD20 показаны на фиг. 121.

На фиг. 105 изображены последовательности XENP16377.

На фиг. 106 изображены последовательности антигенов CD20 и CD123.

Фиг. 107. Определение аффинности к CD3 с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. CD3δε-Fc человека (Sino Biological) ковалентно связывали с поверхностью чипа. Тестируемые препараты пропускали при 3,125, 12,5, 50 и 200 нМ.

Фиг. 108. Определение аффинности к CD3 с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. CD3δε-Fc яванского макака (Sino Biological) ковалентно связывали с поверхностью чипа. Тестируемые препараты пропускали при 3,125, 12,5, 50 и 200 нМ.

Фиг. 109. Определение аффинности к CD3 с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. CD3δε-Fc человека (Sino Biological) ковалентно связывали с поверхностью чипа. Тестируемые препараты пропускали при 31,25, 125, 500 и 2000 нМ.

Фиг. 110. Определение аффинности к CD3 с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. CD3δε-Fc яванского макака (Sino Biological) ковалентно связывали с поверхностью чипа. Тестируемые препараты пропускали при 31,25, 125, 500 и 2000 нМ.

Фиг. 111. Определение аффинности к CD3 с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. CD3δε-Fc яванского макака (Sino Biological) ковалентно связывали с поверхностью чипа. Тестируемые препараты пропускали при 31,25, 125, 500 и 2000 нМ.

Фиг. 112. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч. инкубации, 10 тысяч клеток Ramos, 250 тысяч PBMC. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. Обнаружение проводили с помощью LDH.

Фиг. 113. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч. инкубации, 20 тысяч клеток Jeko, 200 тысяч PBMC (CD19-истощенные). Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. Обнаружение проводили с помощью проточной цитометрии, в частности, в отношении исчезновения CD19⁺ клеток.

Фиг. 114. Продукция IL-6 через 24 ч. для эксперимента, описанного на фиг. 113.

Фиг. 115. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 5 ч. инкубации, 20 тысяч клеток Jeko, 500 тысяч PBMC (CD19-истощенные). Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1L1) × CD3. Обнаружение проводили с помощью проточной цитометрии, в частности, в отношении исчезновения CD19⁺ клеток.

Фиг. 116. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч. инкубации, 20 тысяч клеток Jeko, 500 тысяч PBMC (CD19-истощенные). Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) × CD3. Обнаружение проводили с помощью проточной цитометрии, в частности, в отношении исчезновения CD19⁺ клеток.

Фиг. 117. Продукция IL-6 через 24 ч. для эксперимента, описанного на фиг. 113.

Фиг. 118. Анализ перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности, 24 ч. инкубации, 10 тысяч клеток RPMI8226, 500 тысяч PBMC. Тестируемые препараты представляют собой Fab-scFv-Fc к CD38 (OKT10_H1L1, OKT10_H1.77_L1.24) × CD3. Обнаружение проводили с помощью LDH.

Фиг. 119. Исследование Ig-истощения huPBL-SCID.

Тестируемые препараты вводили через 1 и 8 дней после прививания PBMC в дозе 5 мг/кг. Путь введения был внутрибрюшинным. Образцы крови брали через 14 дней после прививания PBMC, обрабатывали с получением сыворотки и анализировали на предмет IgM и IgG2 человека.

Фиг. 120. Исследование Ig-истощения huPBL-SCID.

Тестируемые препараты вводили через 8 дней после прививания PBMC в дозе 0,03, 0,3 или 3 мг/кг. Путь введения был внутрибрюшинным. Образцы крови брали через 14 дней после прививания PBMC, обрабатывали с получением сыворотки и анализировали на предмет IgM и IgG2 человека.

На фиг. 121 изображены последовательности с высокой аффинностью к CD20 C2B8_H1.202_L1.113. Заряженный линкер представляет собой (+H), хотя можно применять другие заряженные или незаряженные линкеры, как например таковые, изображенные на фиг. 33.

На фиг. 122 изображены последовательности с низкой аффинностью к CD20 C2B8_H1L1. Заряженный линкер представляет собой (+H), хотя можно применять другие заряженные или незаряженные линкеры, как например таковые, изображенные на фиг. 33.

На фиг. 123 изображены последовательности к CD123 7G3_H1.109_L1.57. Заряженный линкер представляет собой (+H), хотя можно применять другие заряженные или незаряженные линкеры, как например таковые, изображенные на фиг. 33.

На фиг. 124 показана матрица возможных комбинаций для настоящего изобретения. "А" означает, что CDR упомянутых последовательностей к CD3 можно комбинировать с CDR к ТТА с правой стороны. То есть v_hCDR из последовательности H1.30 переменного домена тяжелой цепи, связывающейся с CD3, и v_lCDR из последовательности L1.57 переменного домена легкой цепи, связывающейся с CD3, можно комбинировать с v_hCDR из последовательности OKT10 H1.77, связывающейся с CD38, и v_lCDR из последовательности OKT10L1.24. "В" означает, что CDR из связывающихся с CD3 конструкций можно комбинировать с переменными доменами тяжелой и легкой цепей из связывающихся с ТТА конструкций. То есть v_hCDR из последовательности H1.30 переменного домена тяжелой цепи, связывающейся с CD3, и v_lCDR из последовательности L1.57 переменного домена легкой цепи, связывающейся с CD3, можно комбинировать с последовательностью OKT10 H1.77 переменного домена тяжелой цепи, связывающейся с CD38, и последовательностью OKT10L1.24. "С" представляет собой обратную ситуацию, так что переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи из последовательностей, связывающихся с CD3, применяют с CDR из конструкций, связывающихся с ТТА. "D" представляет собой ситуацию, когда комбинируются переменные домены тяжелой цепи и переменные домены легкой цепи из каждой конструкции. "Е" представляет собой ситуацию, когда scFv из последовательности, связывающейся с CD3, применяют с CDR из конструкций, связывающихся с ТТА, и в случае "F" scFv из последовательности, связывающейся с CD3, применяют с переменными доменами тяжелой цепи и переменными доменами легкой цепи из антигенсвязывающего домена антитела к ТТА. Все из этих комбинаций можно выполнять в форматах "открывалки", например, с любым из форматов основной цепи, показанных на фиг. 162, или в альтернативных форматах, таких как mAb-Fv, mAb-scFv, центральный scFv, центральный-Fv, или форматах с двойным scFv из фигуры 1, включая основные цепи форматов, показанных на фигурах 131 и 132). В целом, однако, форматы, которые будут включать бивалентное связывание CD3, являются невыгодными. То есть, "А" (CD3 CDR × ТТА CDR) могут быть добавлены к последовательностям "открывалки" (включая таковые из фигуры 162 или с учетом разных вариантов гетеродимеризации) или в основную цепь mAb-scFv согласно фиг. 132, центральный scFv, формат mAb-Fv или формат центрального Fv.

Фиг. 125. Схематическое изображение биспецифических Fab-scFv-Fc к CD123 × CD3.

Фиг. 126. В таблице показаны варианты, сконструированные для повышения аффинности и стабильности 7G3_H1L1.

Фиг. 127. В таблице показаны свойства конечной аффинности и стабильности оптимизированных гуманизированных вариантов 7G3.

Фиг. 128. Связывание XENP14045 (антитело к CD123 × CD3), которое биспецифически связывается с CD123-положительной клеточной линией AML KG-1a.

Фиг. 129. Перенаправленная Т-клеточная цитотоксичность (RTCC) XENP14045, уничтожающих клетки KG-1a.

Фиг. 130. RTCC XENP14045 с клетками KG-1a с применением разных соотношений эффекторных клеток и клеток-мишеней (Е:Т), демонстрирующих "серийное уничтожение" полученными Т-клетками XENP14045.

Фиг. 131. Уровни лекарственного средства в сыворотке крови после IV введения 2 мг/кг XENP14045 мышам C57BL/6. Период полужизни биспецифического антитела составлял 6,2 дня.

Фиг. 132. Уничтожение базофилами и плазмацитоидными дендритными клетками (PDC) крови CD123+ у яванских макаков после введения IV однократной дозы XENP14045, составляющей 0,01, 0,1 или 1 мг/кг.

Фиг. 133. Уничтожение базофилами и плазмацитоидными дендритными клетками (PDC) CD123+ в костном мозге яванских макаков после введения IV однократной дозы XENP14045, составляющей 0,01, 0,1 или 1 мг/кг.

Фиг. 134. Перераспределение Т-клеток у яванских макаков после введения IV однократной дозы XENP14045.

Фиг. 135. Индукция CD69 Т-клетками у яванских макаков после введения IV однократной дозы XENP14045.

Фиг. 136А-136С. Последовательности согласно настоящему изобретению. Области CDR являются подчеркнутыми.

Фиг. 137. Чистота гетеродимера при генерации стабильного пула с применением разных соотношений легкой цепи, Fab-Fc и scFv-Fc (сверху). Чистота гетеродимера при различных состояниях F2 пула (снизу).

Фиг. 138. SEC, что показывает высокую чистоту материала, представляющего собой клеточную линию XENP14045, после двухстадийной очистки.

На фиг. 139 изображено уничтожение Т-клетками клеток CD123+.

На фиг. 140 изображен биспецифический механизм привлечения цитотоксических Т-клеток к уничтожению стволовых клеток и бластных клеток AML.

На фиг. 141 изображена эффективность выработки биспецифического XENP14045.

На фиг. 142 показано, что биспецифическое антитело XENP14045 связывается с AML человека и характеризуется KD, составляющей 8,1 нМ, в отношении CD3 человека.

На фиг. 143 показано, что биспецифическое антитело XENP14045 является перекрестнореагирующим с клетками приматов и характеризуется KD, составляющей 5,7 нМ, в отношении CD3 яванского макака.

На фиг. 144 показано, что антитело к CD123 × CD3 уничтожает клеточные линии AML человека.

На фиг. 145 показано, что антитело к CD123 × CD3 уничтожает клеточные линии AML человека.

На фиг. 146 показана длительность периода полужизни биспецифического антитела у мышей.

На фиг. 147 показана однократная доза у обезьян.

На фиг. 148 показано истощение клеток CD123+ у обезьян в базофилах крови. Гейт для базофилов, проточная цитометрия представляет собой CD20- CD16+ CD14- CD4- CD8- FcεR1+.

На фиг. 149 показано истощение в базофилах костного мозга с применением того самого гейтирования.

На фиг. 150 показано повторное дозирование, в результате которого происходит истощение клеток CD123+ у обезьян.

На фиг. 151 показано истощение клеток CD123+ у обезьян. Гейт для базофилов, проточная цитометрия представляет собой CD20- CD16+ CD14- CD4- CD8- FcεR1+. Гейтирование плазмацитоидных дендритных клеток, проточная цитометрия: CD20- CD16- CD14- Cd4-CD8- CD303+.

На фиг. 152 показано истощение в костном мозге у обезьян. Гейтирование как на фиг. 151.

На фиг. 153 показано истощение клеток CD123+, что коррелирует с перераспределением и активацией Т-клеток; на фиг. 153 показано перераспределение Т-клеток.

На фиг. 154 показано истощение клеток CD123+, что коррелирует с перераспределением и активацией Т-клеток; на фиг. 154 показана активация Т-клеток.

На фиг. 155 показано истощение клеток CD123+, что коррелирует с перераспределением и активацией Т-клеток; на фиг. 155 показано высвобождение цитокинов.

На фиг. 156А-156D изображены материалы, ассоциированные со сложностью гуманизации последовательностей антител мыши к CD123, как описано в примере 3. На фиг. 125А-С показана потеря аф-

финности вследствие гуманизации (главным образом из-за vH), при этом 13760 представляет собой Fab исходного антитела мыши H0L0, 13763 является первым гуманизированным vH-кандидатом, а 13761 обладает как тяжелой, так и легкой гуманизированными цепями Fab. На фиг. 125D показана ~10-кратная потеря активности RTCC в результате гуманизации.

На фиг. 157 изображены результаты первого раунда гуманизации ("библиотека 1") с получением 108 вариантов, в том числе LDA, целенаправленные и реверсивные замены, которые подвергали скринингу на аффинность в формате Fab на чипе Biacore CD123, при этом варианты с нейтральной и более высокой аффинностью подвергали скринингу на стабильность на DSF.

На фиг. 158A и 158B показано повышение значений T_t, как обсуждается в примере 3.

На фиг. 159A и 159B показаны результаты поворота Fab в формат "открывалки", с применением scFv к CD3 и Fab, которые разработали. На фиг. 159A показан анализ на связывание, а на фиг. 159B показан анализ на RTCC.

На фиг. 160A-160E показаны результаты "раунда 2" гуманизации, как описано в примере 3. Следует отметить, что XENP13967 является эквивалентом XENP14045 на стороне CD123; 13967 имеет разный scFv CD3, как показано в последовательностях.

На фиг. 161 показаны результаты анализа T_m раунда 2 согласно примеру 3.

На фиг. 162A-162D показаны последовательности нескольких пригодных основных цепей формата "открывалки" без последовательностей Fv (например, scFv и vH и vL для стороны Fab). Как будет понятно специалистам в данной области и описано ниже по тексту, такие последовательности могут быть использованы с любой из пар vH и vL, описанных в данном документе, с одним мономером, в том числе scFv (необязательно включая заряженный линкер scFv), и другим мономером, в том числе последовательностями Fab (например, vH, присоединенный к "тяжелой цепи стороны Fab", и vL, присоединенный к "константному домену легкой цепи"). scFv может быть антителом к CD3 или антителом к TTA, при этом Fab должен быть другим. То есть, любые последовательности Fv, описанные в настоящем документе для CD3, CD123, CD38, CD19 или CD20, могут быть включены в данные основные цепи фигуры 162 в любой комбинации.

Следует отметить, что такие основные цепи "открывалки" нашли применение в формате с центральным scFv из фиг. 1B, где дополнительный второй Fab (vH-CH1 и vL-константный домен легкой цепи) с таким же связыванием антигена, что и у первого Fab, добавили к N-концу scFv на стороне "открывалки".

На фиг. 163 показана последовательность основной цепи mAb-scFv, применяемой в настоящем изобретении, к которой добавлены последовательности Fv по настоящему изобретению. Как будет понятно специалистам в данной области и описано ниже по тексту, такие последовательности могут быть использованы с любой из пар vH и vL, описанных в данном документе, с одним мономером, в том числе как Fab, так и scFv (необязательно включая заряженный линкер scFv), и другим мономером, в том числе последовательностью Fab (например, vH, присоединенный к "тяжелой цепи стороны Fab", и vL, присоединенный к "константному домену легкой цепи"). Сторона мономера 1 представляет собой сторону отрицательного Fab-scFv с измененной pI и включает варианты гетеродимеризации L368D/K370S, изостерические варианты с измененной pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, варианты с нарушением E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (все относительно IgG1). Сторона мономера 2 представляет собой сторону положительного scFv с измененной pI и включает варианты гетеродимеризации 364K/E357Q. Однако могут быть заменены другие пары асимметричных вариантов, в частности, [S364K/E357Q: L368D/K370S]; [L368D/K370S: S364K]; [L368E/K370S: S364K]; [T411T/E360E/Q362E: D401K]; [L368D/K370S: S364K/E357L] и [K370S: S364K/E357Q].

Подробное описание изобретения

I. Определения.

Для того, чтобы настоящая заявка была более понятной, ниже изложены некоторые определения. Подразумевается, что такие определения охватывают грамматические эквиваленты.

Под термином "нарушение" в данном документе подразумевается снижение или устранение активности. Так, например, выражение "нарушение связывания с FcγR" означает, что аминокислотный вариант Fc-области характеризуется менее чем 50% связыванием от исходного уровня по сравнению с Fc-областью, не содержащей этот конкретный вариант, с менее чем 70-80-90-95-98% потерей активности, являющейся предпочтительной, и в целом с активностью, которая ниже уровня обнаруживаемого связывания в анализе Biacore. Особенно пригодными в нарушении связывания с FcγR являются те, которые показаны на фиг. 16.

Под используемым в данном документе термином "ADCC" или "антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность" подразумевается клеточноопосредованная реакция, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на клетке-мишени и затем вызывают лизис этой клетки-мишени. ADCC коррелирует со связыванием с FcγRIIIa; повышенная степень связывания с FcγRIIIa приводит к повышению ADCC-активности.

Под используемым в данном документе термином "ADCP" или антителозависимый клеточноопос-

редованный фагоцитоз подразумевается клеточноопосредованная реакция, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на клетке-мишени и затем вызывают фагоцитоз этой клетки-мишени.

Под "модификацией" в данном документе подразумевается аминокислотная замена, вставка и/или делеция в полипептидной последовательности или изменение фрагмента, химически связанного с белком. Например, модификация может представлять собой измененный углевод или структуру PEG, присоединенную к белку. Под "аминокислотной модификацией" в данном документе подразумевается аминокислотная замена, вставка и/или делеция в полипептидной последовательности. Для ясности, если не указано иное, аминокислотная модификация всегда соответствует аминокислоте, кодируемой ДНК, например, 20 аминокислотам, которые имеют кодоны в ДНК и РНК.

Под "аминокислотной заменой" или "заменой" в данном документе подразумевается замещение аминокислоты в конкретном положении в исходной полипептидной последовательности другой аминокислотой. В частности, в некоторых вариантах осуществления замена касается аминокислоты, которая не встречается в естественных условиях в конкретном положении, либо не встречается в естественных условиях в данном организме, или в любом организме. Например, замена E272Y относится к варианту полипептида, в данном случае к Fc-варианту, в котором глутаминовая кислота в положении 272 замещена тирозином. Для ясности, белок, который был сконструирован с изменением кодирующей последовательности нуклеиновой кислоты, но без изменения исходной аминокислоты (например, замена CGG (кодирующий аргинин) на CGA (по-прежнему кодирующий аргинин), с целью повышения уровня экспрессии в организме-хозяине), не предусматривает "аминокислотную замену"; то есть, несмотря на создание нового гена, кодирующего тот же белок, если белок содержит такую же аминокислоту в том конкретном положении, с которого он начинался, это не является аминокислотной заменой.

Под "аминокислотной вставкой" или "вставкой" в данном документе подразумевается добавление аминокислотной последовательности в конкретном положении в исходной полипептидной последовательности. Например, -233E или 233E обозначает вставку глутаминовой кислоты после положения 233 и перед положением 234. Дополнительно, -233ADE или A233ADE обозначает вставку AlaAspGlu после положения 233 и перед положением 234.

Под "делецией аминокислоты" или "делецией" в данном документе подразумевается удаление аминокислотной последовательности в конкретном положении в исходной полипептидной последовательности. Например, E233- или E233# или E233() обозначает делецию глутаминовой кислоты в положении 233. Дополнительно, EDA233- или EDA233# обозначает делецию последовательности GluAspAla, которая начинается в положении 233.

Под "вариантным белком", или "белковым вариантом", или "вариантом", используемым в данном документе, подразумевается белок, который отличается от исходного белка благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации. Белковый вариант может относиться к самому белку, композиции, содержащей белок, или к аминокислотной последовательности, которая его кодирует. Предпочтительно белковый вариант предусматривает по меньшей мере одну аминокислотную модификацию по сравнению с исходным белком, например, от приблизительно одной до приблизительно семидесяти аминокислотных модификаций и предпочтительно от приблизительно одной до приблизительно пяти аминокислотных модификаций по сравнению с исходным белком. Как описано ниже, в некоторых вариантах осуществления исходный полипептид, например исходный Fc-полипептид, представляет собой последовательность дикого типа человека, такую как Fc-область из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, хотя последовательности человека с вариантами также могут служить в качестве "исходных полипептидов", например, гибрид IgG1/2 из фиг. 19. Последовательность белкового варианта в данном документе предпочтительно будет обладать по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью с исходной последовательностью белка и наиболее предпочтительно по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 95-98-99% идентичностью. Вариантный белок может относиться к самому вариантному белку, композициям, содержащим белковый вариант, или к последовательности ДНК, которая его кодирует. Соответственно, под "вариантом антитела" или "вариантным антителом", используемым в данном документе, подразумевается антитело, которое отличается от исходного благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации, "вариант IgG" или "вариантный IgG", используемый в данном документе, означает антитело, которое отличается от исходного IgG (опять-таки во многих случаях от последовательности IgG человека) благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации, и "вариант иммуноглобулина" или "вариантный иммуноглобулин", используемый в данном документе, означает последовательность иммуноглобулина, которая отличается от последовательности исходного иммуноглобулина благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации. Термин "Fc-вариант" или "вариантный Fc", используемый в данном документе, означает белок, предусматривающий аминокислотную модификацию в Fc-домене. Fc-варианты по настоящему изобретению определены в соответствии с аминокислотными модификациями, которые их образуют. Таким образом, например, N434S или 434S представляет собой Fc-вариант с заменяющим серином в положении 434 относительно исходного Fc-полипептида, где нумерация соответствует EU-индексу. Аналогично, M428L/N434S определяет Fc-вариант с заменами M428L и N434S относительно исходного Fc-

полипептида. Идентичность аминокислоты WT (дикого типа) может быть не определена, и в этом случае указанный выше вариант упоминается как 428L/434S. Отмечается, что порядок, в котором предусматриваются замены, является произвольным, то есть, например, 428L/434S представляет собой тот же Fc-вариант, что и M428L/N434S, и так далее. Для всех положений, обсуждаемых в настоящем изобретении, которые относятся к антителам, если не указано иное, нумерация аминокислотных положений соответствует EU-индексу. EU-индекс, или EU-индекс по Kabat, или схема нумерации согласно EU относится к нумерации антитела согласно EU (Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85, полностью включена в данный документ посредством ссылки). Модификация может представлять собой добавление, делецию или замену. Замены могут включать аминокислоты, встречающиеся в естественных условиях, и, в некоторых случаях, синтетические аминокислоты. Примеры включают патент США № 6586207; WO 98/48032; WO 03/073238; US2004-0214988A1; WO 05/35727A2; WO 05/74524A2; J. W. Chin et al., (2002), Journal of the American Chemical Society 124:9026-9027; J. W. Chin, & P. G. Schultz, (2002), Chem. BioChem. 11:1135-1137; J. W. Chin, et al., (2002), PICAS United States of America 99:11020-11024; и L. Wang, & P. G. Schultz, (2002), Chem. 1-10, все полностью включены посредством ссылки.

Используемый в данном документе термин "белок" означает по меньшей мере две ковалентно соединенные аминокислоты, при этом термин в себя белки, полипептиды, олигопептиды и пептиды. Пептидная группа может содержать встречающиеся в естественных условиях аминокислоты и пептидные связи или синтетические пептидомиметические структуры, т.е. "аналоги", такие как пептоиды (см. Simon et al., PNAS USA 89(20):9367 (1992), полностью включенную посредством ссылки). Аминокислоты могут быть либо встречающимися в естественных условиях, либо синтетическими (например, не являющимися аминокислотами, которые кодируются ДНК), как будет понятно специалистам в данной области. Например, гомофенилаланин, цитруллин, орнитин и норлейцин считаются синтетическими аминокислотами для целей настоящего изобретения, и могут использоваться аминокислоты как D-, так и L- (R или S) конфигурации. Варианты настоящего изобретения могут предусматривать модификации, которые включают применение синтетических аминокислот, включая применение, например, технологий, разработанных Schultz и его коллегами, включая без ограничения способы, описанные Cropp & Shultz, 2004, Trends Genet. 20 (12):625-30, Anderson et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA 101 (2):7566-71, Zhang et al., 2003, 303 (5656):371-3 и Chin et al., 2003, Science 301 (5635): 964-7, все полностью включены посредством ссылки. Кроме того, полипептиды могут включать синтетическую дериватизацию одной или нескольких боковых цепей или концов, гликозилирование, пэгилирование, циклическую перестановку, циклизацию, линкеры с другими молекулами, слияние с белками или белковыми доменами и добавление пептидных меток или меток.

Под термином "остаток", используемым в данном документе, подразумевается положение в белке и ассоциированная с ним аминокислотная идентичность. Например, аспарагин 297 (также называемый Asn297 или N297) представляет собой остаток в положении 297 в антителе IgG1 человека.

Под термином "Fab" или "Fab-область", используемым в данном документе, подразумевается полипептид, который содержит VH-, CH1-, VL- и CL-домены иммуноглобулина. Fab может относиться к этой области самой по себе или к этой области в контексте полноразмерного антитела, фрагмента антитела или белка слияния на основе Fab. Под термином "Fv", или "Fv-фрагмент", или "Fv-область", используемым в данном документе, подразумевается полипептид, который содержит VL- и VH-домены одного антитела. Как будет понятно специалистам в данной области, они обычно состоят из двух цепей.

Под выражением "модификация подкласса IgG" или "модификация изотипа", используемым в данном документе, подразумевается аминокислотная модификация, которая обеспечивает превращение одной аминокислоты одного изотипа IgG в соответствующую аминокислоту другого выровненного изотипа IgG. Например, поскольку IgG1 содержит тирозин, а IgG2 содержит фенилаланин в положении 296 согласно EU, замена F296Y в IgG2 считается модификацией подкласса IgG.

Под выражением "не встречающаяся в естественных условиях модификация", используемым в данном документе, подразумевается аминокислотная модификация, которая не является изотипической. Например, поскольку ни один из IgG не содержит серии в положении 434, замена 434S в IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 (или их гибридах) считается не встречающейся в естественных условиях модификацией.

Под термином "аминокислота" и "аминокислотная идентичность", используемым в данном документе, подразумевается одна из 20 встречающихся в естественных условиях аминокислот, которые кодируются ДНК и РНК.

Под термином "эффекторная функция", используемым в данном документе, подразумевается биохимическое событие, которое возникает в результате взаимодействия Fc-области антитела с Fc-рецептором или лигандом. Эффекторные функции включают без ограничения ADCC, ADCP и CDC.

Под термином "лиганд Fc IgG", используемым в данном документе, подразумевается молекула, предпочтительно полипептид, из любого организма, которая связывается с Fc-областью IgG-антитела с образованием комплекса Fc/лиганд Fc. Лиганды Fc включают без ограничения FcγRI, FcγRII, FcγRIII, FcRn, C1q, C3, маннан-связывающий лектин, маннозный рецептор, стафилококковый белок А, стрептококковый белок G и вирусный FcγR. Лиганды Fc также включают гомологи Fc-рецептора (FcRH), кото-

рые представляют собой семейство Fc-рецепторов, гомологичных FcγR (Davis et al., 2002, Immunological Reviews 190:123-136, полностью включена посредством ссылки). Лиганды Fc могут включать неизвестные молекулы, которые связывают Fc. Конкретными лигандами Fc IgG являются FcRn и Fc-гамма-рецепторы. Под термином "лиганд Fc", используемым в данном документе, подразумевается молекула, предпочтительно полипептид, из любого организма, которая связывается с Fc-областью антитела с образованием комплекса Fc/лиганд Fc.

Под термином "Fc-гамма-рецептор", "FcγR" или "Fc-гамма R", используемым в данном документе, подразумевается любой представитель семейства белков, который связывает Fc-область IgG-антитела и кодируется геном FcγR. У человека это семейство включает без ограничения FcγRI (CD64), в том числе изоформы FcγRIa, FcγRIb и FcγRIc; FcγRII (CD32), в том числе изоформы FcγRIIa (включая аллотипы H131 и R131), FcγRIIb (включая FcγRIIb-1 и FcγRIIb-2) и FcγRIIc; и FcγRIII (CD16), в том числе изоформы FcγRIIIa (включая аллотипы V158 и F158) и FcγRIIIb (включая аллотипы FcγRIIIb-NA1 и FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, полностью включенная посредством ссылки), а также любые неизвестные FcγR или изоформы или аллотипы FcγR человека. FcγR может происходить из любого организма, включая без ограничения людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян. FcγR мыши включают без ограничения FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16) и FcγRIII-2 (CD16-2), а также любые неизвестные FcγR мыши или изоформы или аллотипы FcγR.

Под термином "FcRn" или "неонатальный Fc-рецептор", используемым в данном документе, подразумевается белок, который связывается с Fc-областью IgG-антитела и кодируется, по меньшей мере частично, геном FcRn. FcRn может происходить из любого организма, включая без ограничения людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян. Как известно из уровня техники, функциональный белок FcRn содержит два полипептида, часто называемых тяжелой цепью и легкой цепью. Легкая цепь представляет собой бета-2-микроглобулин, и тяжелая цепь кодируется геном FcRn. Если в данном документе не указано иное, FcRn или белок FcRn относятся к комплексу тяжелой цепи FcRn с бета-2-микроглобулином. Различные варианты FcRn, применяемые для повышения степени связывания с рецептором FcRn и, в некоторых случаях, для увеличения периода полужизни в сыворотке, показаны в пояснениях к фиг., относящейся к фиг. 83.

Под термином "исходный полипептид", используемым в данном документе, подразумевается начальный полипептид, который затем модифицируют с получением варианта. Исходный полипептид может представлять собой встречающийся в естественных условиях полипептид, или вариант, или сконструированную версию встречающегося в естественных условиях полипептида. Исходный полипептид может относиться к самому полипептиду, композиции, содержащим исходный полипептид, или к аминокислотной последовательности, которая его кодирует. Соответственно, под термином "исходный иммуноглобулин", используемым в данном документе, подразумевается немодифицированный полипептид иммуноглобулина, который модифицируют с получением варианта, и под термином "исходное антитело", используемым в данном документе, подразумевается немодифицированное антитело, которое модифицируют с получением вариантного антитела. Следует отметить, что "исходное антитело" включает в себя известные полученные рекомбинантным путем коммерческие антитела, описанные ниже.

Под "Fc" или "Fc-областью" или "Fc-доменом", используемыми в данном документе, подразумевается полипептид, содержащий константную область антитела кроме первого домена константной области иммуноглобулина и, в некоторых случаях, части шарнира. Таким образом, Fc относится к последним двум доменам константной области иммуноглобулинов IgA, IgD и IgG, последним трем доменам константной области иммуноглобулинов IgE и IgM и гибкому шарниру с N-конца от этих доменов. В случае IgA и IgM Fc может включать J-цепь. В случае IgG Fc-домен содержит домены иммуноглобулинов Cγ2 и Cγ3 (Cγ2 и Cγ3) и нижнюю область шарнира между Cγ1 (Cγ1) и Cγ2 (Cγ2). Несмотря на то, что границы Fc-участка могут варьировать, Fc-область тяжелой цепи IgG человека обычно определяется как содержащая остатки C226 или P230 на его карбоксильном конце, где нумерация приведена согласно EU-индексу по Kabat. В некоторых вариантах осуществления, как более подробно описано ниже, аминокислотные модификации производят в Fc-области, например, для изменения связывания с одним или несколькими рецепторами FcγR или с рецептором FcRn.

Под термином "константная область тяжелой цепи" в данном документе подразумевается часть антитела CH1-шарнир-CH2-CH3.

Под термином "белок слияния на основе Fc" или "иммуноадгезин" в данном документе подразумевается белок, содержащий Fc-область, как правило соединенную (необязательно посредством линкерного фрагмента, как описано в данном документе) с другим белком, таким как фрагмент связывания с белком-мишенью, описываемым в данном документе. В некоторых случаях один мономер гетеродимерного антитела содержит тяжелую цепь антитела (включающую scFv или дополнительно включающую легкую цепь), а другой мономер представляет собой Fc-гибрид, содержащий вариантный Fc-домен и лиганд. В некоторых вариантах осуществления эти "наполовину антитела-наполовину белки слияния" упоминаются как "антитела слияния".

Под термином "положение", используемым в данном документе, подразумевается местоположение

в последовательности белка. Положения могут быть пронумерованы последовательно или в соответствии с установленным форматом, например EU-индексом для нумерации антител.

Под термином "антиген-мишень", используемым в данном документе, подразумевается молекула, которая специфически связывается вариабельной областью данного антитела. Антигеном-мишенью может быть белок, углевод, липид или другое химическое соединение. Ниже описано большое количество подходящих антигенов-мишеней.

Под термином "нитевая структура" в контексте мономеров гетеродимерных антител по настоящему изобретению в данном документе подразумевается, что подобно двум нитям ДНК, которые

"соответствуют", варианты гетеродимеризации включены в каждый мономер таким образом, чтобы сохранить способность "соответствовать" с образованием гетеродимеров. Например, если некоторые варианты с измененной pI сконструированы с образованием мономера A (например, с обеспечением более высокой pI), тогда стерические варианты, являющиеся "парами по заряду", которые также могут использоваться, не нарушают функцию вариантов с измененной pI, например, заряженные варианты, которые делают pI выше, помещают в одну и ту же "нить" или "мономер" для сохранения обеих функциональных возможностей. Аналогичным образом, для "асимметричных" вариантов, которые входят в пары набора, как более подробно описано ниже, специалист в данной области примет во внимание pI при принятии решения о том, в какую нить или мономер будет включен один набор из пары так, что разделение по pI максимизируется также с помощью pI структур асимметрии.

Под термином "клетка-мишень", используемым в данном документе, подразумевается клетка, которая экспрессирует антиген-мишень.

Под термином "вариабельная область", используемым в данном документе, подразумевается область в иммуноглобулине, которая содержит один или несколько доменов Ig, главным образом кодируемых любым из генов V.kappa., V.lamda. и/или VH, которые составляют генетические локусы каппа, лямбда и тяжелой цепи иммуноглобулина соответственно.

Термин "дикий тип или WT" в данном документе означает аминокислотную последовательность или нуклеотидную последовательность, которая обнаруживается в естественных условиях, включая аллельные варианты. Белок WT имеет аминокислотную последовательность или нуклеотидную последовательность, которая не была преднамеренно модифицирована.

Антитела по настоящему изобретению являются, как правило, выделенными или рекомбинантными. "Выделенный" при использовании для описания различных полипептидов, раскрытых в данном документе, означает полипептид, который был идентифицирован и выделен и/или извлечен из клетки или клеточной культуры, в которой он был экспрессирован. Обычно выделенный полипептид будет получать с помощью по меньшей мере одной стадии очистки. "Выделенное антитело" относится к антителу, которое практически не содержит других антител, обладающих отличающейся антигенной специфичностью. "Рекомбинантный" означает, что антитела получают с помощью методов рекомбинантных нуклеиновых кислот в экзогенных клетках-хозяевах.

"Специфическое связывание" или "специфически связывается с" или является "специфическим для" в отношении конкретного антигена или эпитопа означает связывание, которое заметно отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание можно измерить, например, путем определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая обычно представляет собой молекулу с аналогичной структурой, которая не обладает активностью связывания. Например, специфическое связывание можно определить по конкуренции с контрольной молекулой, которая аналогична мишени.

Специфическое связывание для конкретного антигена или эпитопа может быть продемонстрировано, например, антителом, характеризующимся KD для антигена или эпитопа по меньшей мере приблизительно 10⁻⁴ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻⁵ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻⁶ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻⁷ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻⁸ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻⁹ M, альтернативно, по меньшей мере приблизительно 10⁻¹⁰ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻¹¹ M, по меньшей мере приблизительно 10⁻¹² M или больше, где KD означает скорость диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Как правило, антитело, которое специфически связывает антиген, будет характеризоваться KD, которая в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или более раз выше для контрольной молекулы по сравнению с антигеном или эпитопом.

Кроме того, специфическое связывание конкретного антигена или эпитопа может быть продемонстрировано, например, антителом, характеризующимся KA или Ka для антигена или эпитопа по меньшей мере в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или более раз выше для эпитопа по сравнению с контролем, где KA или Ka означает скорость ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Аффинность связывания, как правило, измеряют с применением анализа Biacore.

II. Краткий обзор.

Биспецифические антитела, которые совместно контактируют с CD3 и опухолевым антигеном-мишенью, были сконструированы и применялись для перенаправления Т-клеток для атаки и лизиса целевых опухолевых клеток. Примеры включают форматы BiTE и DART, которые моновалентно контактируют с CD3 и опухолевым антигеном. Несмотря на то, что подход целенаправленного воздействия на

CD3 показал значительные перспективы, распространенный побочный эффект таких методов терапии связан с выработкой цитокинов, что часто приводит к токсическому синдрому высвобождения цитокинов. Поскольку связывающий домен биспецифического антитела к CD3 контактирует со всеми Т-клетками, привлекается субпопуляция CD4 Т-клеток, продуцирующих цитокины на высоком уровне. Более того, субпопуляция CD4 Т-клеток включает регуляторные Т-клетки, привлечение и размножение которых потенциально может привести к подавлению иммунитета и оказать негативное влияние на долгосрочное подавление опухоли. Кроме того, эти форматы не содержат Fc-домены и характеризуются очень короткими периодами полужизни в сыворотке пациентов.

Несмотря на то, что подход целенаправленного воздействия на CD3 показал значительные перспективы, распространенный побочный эффект таких методов терапии связан с выработкой цитокинов, что часто приводит к токсическому синдрому высвобождения цитокинов. Поскольку связывающий домен биспецифического антитела к CD3 контактирует со всеми Т-клетками, привлекается субпопуляция CD4 Т-клеток, продуцирующих цитокины на высоком уровне. Более того, субпопуляция CD4 Т-клеток включает регуляторные Т-клетки, привлечение и размножение которых потенциально может привести к подавлению иммунитета и оказать негативное влияние на долгосрочное подавление опухоли. Одним из таких возможных путей снижения выработки цитокинов и, возможно, снижения активации CD4 Т-клеток является снижение аффинности домена, связывающегося с CD3, по отношению к CD3.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкции антител, содержащие антигенсвязывающие домены антитела к CD3, которые являются "сильными" или "высокоаффинными" связывающими CD3 (например, один из примеров представляет собой вариативные домены тяжелой и легкой цепей, изображенные как H1.30_L1.47 (необязательно, включая соответствующий заряженный линкер)), а также связываются с CD38. В других вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкции антител, содержащие антигенсвязывающие домены антитела к CD3, которые являются "слабыми" или "с более низкой аффинностью" связывающими CD3. Дополнительные варианты осуществления предусматривают конструкции антител, содержащие антигенсвязывающие домены антитела к CD3, которые характеризуются средней или "промежуточной" аффинностью к CD3, которые также связываются с CD38. Аффинность, как правило, измеряют с применением анализа Biacore.

Следует понимать, что последовательности с "высокой, промежуточной, низкой" аффинностью к CD3 по настоящему изобретению можно применять в различных форматах гетеродимеризации. Хотя в большей части раскрытия в данном документе применяется формат гетеродимеров в виде "открывалки", эти вариативные последовательности тяжелой и легкой цепей, а также последовательности scFv (и последовательности Fab, содержащие эти вариативные последовательности тяжелой и легкой цепей) можно применять в других форматах, таких как показанные на фиг. 2 из публикации WO 2014/145806, фигуры, форматы и пояснения обозначений которых явным образом включены в данный документ посредством ссылки.

Соответственно, настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, которые связываются с двумя различными антигенами, например, антитела, которые являются "биспецифическими" в том смысле, что они связывают два разных антигена-мишени, как правило, опухолевые антигены-мишени (ТТА), описываемые ниже. Данные гетеродимерные антитела могут связывать эти антигены-мишени либо моновалентно (например, имеется один антигенсвязывающий домен, такой как пара вариативных доменов тяжелой и легкой цепи), либо бивалентно (имеются два антигенсвязывающих домена, каждый из которых независимо связывает антиген). Структура гетеродимерных антител по настоящему изобретению основана на применении разных мономеров, предусматривающих аминокислотные замены, которые "смещают" образование гетеродимеров по сравнению с гомодимерами, как это более подробно описано ниже, в сочетании с "вариантами с измененной pI", что упрощает очистку гетеродимеров от гомодимеров, что также описано ниже. Что касается гетеродимерных биспецифических антител по настоящему изобретению, настоящее изобретение в целом основывается на применении сконструированных или вариантных Fc-доменов, которые могут подвергаться самосборке в вырабатывающих клетках с получением гетеродимерных белков, а также способах получения и очистки таких гетеродимерных белков.

III. Антитела.

Настоящее изобретение относится к получению биспецифических антител, которые связывают два разных антигена, например, CD3 и опухолевый антиген-мишень, такой как CD19, CD20, CD38 и CD123, и представляют собой, как правило, терапевтические антитела. Как обсуждается ниже, термин "антитело" используется в общем смысле. Антитела, которые находят применение в настоящем изобретении, могут принимать ряд форматов, описанных в данном документе, включая традиционные антитела, а также производные антител, фрагменты и миметики, описанные в данном документе.

Традиционные структурные единицы антитела обычно включают в себя тетрамер. Каждый тетрамер, как правило, состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, каждая пара имеет одну "легкую" (как правило, с молекулярной массой приблизительно 25 кДа) и одну "тяжелую" цепь (как правило, с молекулярной массой приблизительно 50-70 кДа). Легкие цепи человека классифицируются как легкие

каппа- и лямбда-цепи. Настоящее изобретение относится к классу IgG, который имеет несколько подклассов, включая без ограничения IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Следует отметить, что IgG1 обладает разными аллотипами с полиморфизмами в 356 (D или E) и 358 (L или M). В последовательностях, представленных в данном документе, используется аллотип 356D/358M, хотя в документ включен другой аллотип. То есть, любая последовательность, включая Fc-домен IgG1, включенный в данный документ, может иметь 356E/358L, заменяющий аллотип 356D/358M.

Кроме того, многие из последовательностей в данном документе имеют по меньшей мере один цистеин в положении 220, замененный серином; в большинстве последовательностей, представленных в данном документе, он находится, как правило, со стороны "мономера scFv", хотя он может также находиться со стороны "мономера Fab", или с обеих сторон, с уменьшенным образованием дисульфида. Специфически включенными в последовательности данного документа являются один или оба из этих замененных цистеинов (C220S).

Таким образом, используемый в данном документе термин "изотип" означает любой из подклассов иммуноглобулинов, определяемых химическими и антигенными характеристиками их константных областей. Следует понимать, что терапевтические антитела также могут предусматривать гибриды изотипов и/или подклассов. Например, как показано в публикации US 2009/0163699, включенной посредством ссылки, настоящее изобретение охватывает конструирование гибридов IgG1/G2 с учетом pI.

Аминоконцевая часть каждой цепи включает в себя вариабельную область из от приблизительно 100 до 110 или больше аминокислот, которые в первую очередь отвечают за распознавание антигена, обычно упоминаемую в данной области техники и в данном документе как "Fv-домен" или "Fv-область". В вариабельной области три петли собраны для каждого из V-доменов тяжелой цепи и легкой цепи с образованием антигенсвязывающего участка. Каждая из петель упоминается как определяющая комплементарность область (в дальнейшем называемая "CDR"), в котором изменение аминокислотной последовательности является наиболее значимым. "Изменение" относится к тому факту, что определенные сегменты вариабельной области сильно различаются по последовательности между антителами. Вариабельность в пределах вариабельной области распределена неравномерно. В отличие от этого, V-области состоят из относительно инвариантных отрезков, называемых каркасными областями (FR), из 15-30 аминокислот, разделенных более короткими областями исключительной вариабельности, называемыми "гипервариабельными областями", каждая из которых длиной 9-15 аминокислот или длиннее.

Каждый VH и VL состоит из трех гипервариабельных областей ("определяющих комплементарность областей", "CDR") и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

Гипервариабельная область обычно охватывает аминокислотные остатки приблизительно из аминокислотных остатков 24-34 (LCDR1; "L" обозначает легкую цепь), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3) в вариабельной области легкой цепи и поблизости приблизительно 31-35B (HCDR1; "H" обозначает тяжелую цепь), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3) в вариабельной области тяжелой цепи; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Бетесда, Мэриленд, (1991) и/или те остатки, которые образуют гипервариабельную петлю (например, остатки 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) и 91-96 (LCDR3) в вариабельной области легкой цепи и 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) и 96-101 (HCDR3) в вариабельной области тяжелой цепи; Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917. Конкретные CDR по настоящему изобретению описаны ниже.

Как будет понятно специалистам в данной области, точная нумерация и размещение CDR могут отличаться среди разных систем нумерации. Однако следует понимать, что раскрытие последовательности вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи включает раскрытие ассоциированных CDR. Соответственно, раскрытие каждой вариабельной области тяжелой цепи представляет собой раскрытие vHCDR (например, vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3), и раскрытие каждой вариабельной области легкой цепи представляет собой раскрытие vLCDR (например, vLCDR1, vLCDR2 и vLCDR3).

В настоящем описании обычно применяется система нумерации по Kabat при упоминании остатка в вариабельном домене (примерно остатки 1-107 вариабельной области легкой цепи и остатки 1-113 вариабельной области тяжелой цепи), и система нумерации согласно EU для Fc-областей (например, Kabat et al., *supra* (1991)).

Настоящее изобретение предусматривает большое число различных наборов CDR. В этом случае "полный набор CDR" включает в себя три CDR вариабельной области легкой цепи и три CDR вариабельной области тяжелой цепи, например, vLCDR1, vLCDR2, vLCDR3, vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3. Они могут быть частью более крупного вариабельного домена легкой цепи или вариабельного домена тяжелой цепи соответственно. Кроме того, как более подробно описано в данном документе, вариабельные домены тяжелой цепи и вариабельные домены легкой цепи могут находиться в отдельных полипептидных цепях, в случае применения тяжелой и легкой цепей (например, когда используют Fab), или в одной полипептидной цепи в случае последовательностей scFv.

CDR участвуют в образовании антигенсвязывающего или, более конкретно, эпитопсвязывающего участка антител. "Эпитоп" относится к детерминанте, которая взаимодействует с конкретным антигенсвязывающим участком в вариабельной области молекулы антитела, известным как паратоп. Эпитопы

представляют собой группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно обладают определенными структурными характеристиками, а также определенными характеристиками заряда. Один антиген может иметь более чем один эпитоп.

Эпитоп может включать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа), и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно не участвуют в связывании, такие как аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфически связывающим антиген пептидом; другими словами, аминокислотный остаток находится в пределах области распознавания специфически связывающего антиген пептида.

Эпитопы могут быть либо конформационными, либо линейными. Конформационный эпитоп образуется пространственно расположенными рядом аминокислотами из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образуемый соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. Конформационные и неконформационные эпитопы можно отличить по тому, что связывание с первым, но не с последним, утрачивается в присутствии денатурирующих растворителей.

Эпитоп, как правило, включает по меньшей мере 3 и, чаще, по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп, могут быть установлены в простом иммунологическом анализе, показывающем способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с антигеном-мишенью, например, в "сортировке".

Карбоксиконцевая часть каждой цепи определяет константную область, в первую очередь отвечающую за эффекторную функцию. Kabat et al. получили множество первичных последовательностей переменных областей тяжелых цепей и легких цепей. Основываясь на степени консервативности последовательностей, они классифицировали отдельные первичные последовательности на CDR и каркасы и составили их перечень (см. SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5-е изд., публикация NIH, No. 91-3242, E.A. Kabat et al., полностью включенную посредством ссылки).

В подклассе иммуноглобулинов IgG в тяжелой цепи имеется несколько иммуноглобулиновых доменов. "Домен иммуноглобулина (Ig)" в данном документе означает область иммуноглобулина, имеющую определенную третичную структуру. В настоящем изобретении представляют интерес домены тяжелой цепи, включая константные домены тяжелой цепи (CH) и шарнирные домены. Что касается IgG-антител, изотипы IgG имеют по три CH-области. Соответственно, "CH"-домены применительно к IgG представляют собой следующее: "CH1" относится к положениям 118-220 согласно EU-индексу по Kabat. "CH2" относится к положениям 237-340 согласно EU-индексу по Kabat и "CH3" относится к положениям 341-447 согласно EU-индексу по Kabat. Как показано в данном документе и описано ниже, варианты с измененной pI могут быть в одной или нескольких CH-областях, а также в шарнирной области, обсуждаемой ниже.

Следует отметить, что последовательности, представленные в данном документе, начинаются с CH1-области в положении 118; переменные области не включены, если не указано иное. Например, первая аминокислота SEQ ID NO: 2, обозначенная как положение "1" в перечне последовательностей, соответствует положению 118 CH1-области согласно нумерации EU.

Другим типом домена Ig тяжелой цепи является шарнирная область. Под термином "шарнир" или "шарнирная область" или "шарнирная область антитела" или "шарнирная область иммуноглобулина" в данном документе подразумевается гибкий полипептид, включающий в себя аминокислоты между первым и вторым константными доменами антитела. Структурно CH1-домен IgG заканчивается в положении 220 по EU, а CH2-домен IgG начинается с положения остатка 237 по EU. Таким образом, для IgG шарнир антитела определен в данном документе как включающий положения с 221 (D221 в IgG1) по 236 (G236 в IgG1), где нумерация соответствует EU-индексу по Kabat. В некоторых вариантах осуществления, например в отношении Fc-области, включается нижний шарнир, причем "нижний шарнир", как правило, относится к положениям 226 или 230. Как отмечено в данном документе, варианты с измененной pI могут быть выполнены также в шарнирной области.

Легкая цепь обычно содержит два домена, переменный домен легкой цепи (содержащий CDR легкой цепи и, вместе с переменными доменами тяжелой цепи, образующий Fv-область) и константную область легкой цепи (часто обозначаемую как CL или Ск).

Другой областью, представляющей интерес для дополнительных замен, описанных ниже, является Fc-область.

Таким образом, настоящее изобретение предусматривает различные домены антитела. Как описано в данном документе и известно из уровня техники, гетеродимерные антитела по настоящему изобретению содержат разные домены в пределах тяжелой и легкой цепей, которые также могут перекрываться. Эти домены включают без ограничения Fc-домен, CH1-домен, CH2-домен, CH3-домен, шарнирный домен, константный домен тяжелой цепи (CH1-шарнир-Fc-домен или CH1-шарнир-CH2-CH3), переменный домен тяжелой цепи, переменный домен легкой цепи, константный домен легкой цепи, FAb-домены и scFv-домены.

Таким образом, "Fc-домен" включает в себя -CH2-CH3-домен и необязательно шарнирный домен. В вариантах осуществления в данном документе, если scFv присоединен к Fc-домену, то он представляет

собой С-конец конструкции scFv, которая присоединена к шарниру Fc-домена; например, как правило, он присоединен к последовательности EPKS, что является началом шарнира. Тяжелая цепь включает переменный домен тяжелой цепи и константный домен, который включает не обязательно содержащий CH1 домен шарнир-Fc, содержащий CH2-CH3. Легкая цепь включает переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи. scFv содержит переменную область тяжелой цепи, линкер scFv и переменный домен легкой цепи. В большинстве конструкций и последовательностей, описанных в данном документе, С-конец переменной области легкой цепи присоединен к N-концу линкера scFv, С-конец которого присоединен к N-концу переменной области тяжелой цепи (N-vh-линкер-vl-C), хотя они могут быть поменяны местами (N-vl-линкер-vh-C).

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают по меньшей мере один scFv-домен, который, хотя и не встречается в естественных условиях, обычно включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, соединенные вместе линкером scFv. Как показано в данном документе, существует ряд подходящих линкеров scFv, которые можно применять, включая традиционные пептидные связи, получаемые с применением рекомбинантных методик.

Линкерный пептид может преимущественно включать следующие аминокислотные остатки: Gly, Ser, Ala или Thr. Линкерный пептид должен иметь длину, достаточную для связывания двух молекул таким образом, что они принимают правильную конформацию относительно друг друга, так что они сохраняют желаемую активность. В одном варианте осуществления линкер составляет от приблизительно 1 до 50 аминокислот в длину, предпочтительно от приблизительно 1 до 30 аминокислот в длину. В одном варианте осуществления можно применять линкеры длиной от 1 до 20 аминокислот, причем в некоторых вариантах осуществления находят применение от приблизительно 5 до приблизительно 10 аминокислот. Пригодные линкеры включают в себя глицин-сериновые полимеры, в том числе, например (GS)_n, (GSGGS)_n, (GGGS)_n и (GGGS)_n, где n представляет собой целое число, равное по меньшей мере единице (и обычно от 3 до 4), глицин-аланиновые полимеры, аланин-сериновые полимеры и другие гибкие линкеры. Альтернативно, в качестве линкеров можно применять различные небелковые полимеры, включая без ограничения полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль, полиоксиалкилены или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, то есть они могут найти применение в качестве линкеров.

Другие линкерные последовательности могут включать любую последовательность любой длины домена CL/CH1, но не все остатки домена CL/CH1; например, первые 5-12 аминокислотных остатков доменов CL/CH1. Линкеры можно получить из легкой цепи иммуноглобулина, например С_κ или С_λ. Линкеры можно получить из тяжелых цепей иммуноглобулина любого изотипа, включая, например, С_γ1, С_γ2, С_γ3, С_γ4, С_α1, С_α2, С_δ, С_ε и С_μ. Линкерные последовательности могут быть также получены из других белков, таких как Ig-подобные белки (например, TCR, FcR, KIR), последовательности, производные от шарнирной области, и другие природные последовательности из других белков.

В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой "междоменный линкер", применяемый для связывания любых двух доменов, как дополнительно описано в данном документе. Хотя можно применять любой подходящий линкер, во многих вариантах осуществления используют глицин-сериновый полимер, включая, например, (GS)_n, (GSGGS)_n, (GGGS)_n и (GGGS)_n, где n представляет собой целое число, равное по меньшей мере единице (и обычно от 3 до 4 до 5), а также любую пептидную последовательность, которая обеспечивает возможность рекомбинантного соединения двух доменов с достаточной длиной и гибкостью, чтобы обеспечить для каждого домена сохранение его биологической функции. В некоторых случаях, и с уделением особого внимания "нитевой структуре", как описано ниже, можно применять заряженные междоменные линкеры, применяемые в некоторых вариантах осуществления линкеров scFv.

В некоторых вариантах осуществления линкер scFv представляет собой заряженный линкер scFv, ряд которых показан на фиг. 33. Соответственно, настоящее изобретение дополнительно предусматривает заряженные линкеры scFv для облегчения разделения в отношении pI первого и второго мономеров. То есть путем включения заряженного линкера scFv, как положительного, так и отрицательного (или обоих, в случае каркасов, в которых применяют scFv в разных мономерах), это позволяет мономеру, содержащему заряженный линкер, изменять pI без внесения дополнительных изменений в Fc-домены. Эти заряженные линкеры могут быть заменены в любом scFv, содержащем стандартные линкеры. Кроме того, как будет понятно специалистам в данной области, заряженные линкеры scFv применяют в соответствующей "нити" или мономере согласно желаемым изменениям в отношении pI. Например, как обсуждается в данном документе, для получения гетеродимерного антитела в тройном F-формате рассчитывают исходную pI Fv-области для каждого из желаемых антигенсвязывающих доменов и один выбирают для получения scFv, и в зависимости от pI выбирают либо положительно, либо отрицательно заряженные линкеры.

Заряженные междоменные линкеры также можно применять для увеличения разделения в отношении pI мономеров по настоящему изобретению, и, таким образом, те, которые включены на фиг. 33, можно применить в любом варианте осуществления в данном документе, где используется линкер.

В некоторых вариантах осуществления антитела являются полноразмерными. Под термином "полноразмерное антитело" в данном документе подразумевается структура, которая представляет собой природную биологическую форму антитела, том числе переменные и константные области, включая одну или несколько модификаций, описанных в данном документе, в частности, в Fc-доменах, с обеспечением либо возникновения гетеродимеризации, либо очистки гетеродимеров от гомодимеров. Полноразмерные антитела обычно включают Fab- и Fc-домены и могут дополнительно содержать добавочные антигенсвязывающие домены, такие как scFv, как это в целом показано на фигурах.

В одном варианте осуществления антитело представляет собой фрагмент антитела в случае, когда он содержит по меньшей мере один константный домен, который может быть сконструирован с получением гетеродимеров, таких как сконструированные с учетом pI. Другие фрагменты антител, которые можно применять, включают фрагменты, которые содержат один или несколько из CH1-, CH2-, CH3-, шарнирного и CL-доменов по настоящему изобретению, которые были сконструированы с учетом pI. Например, Fc-гибриды представляют собой гибриды Fc-области (CH2 и CH3, необязательно с шарнирной областью), соединенной с другим белком. Ряд Fc-гибридов известен из уровня техники и может быть улучшен путем добавления вариантов гетеродимеризации по настоящему изобретению. В данном случае могут быть получены антитела слияния, содержащие CH1; CH1, CH2 и CH3; CH2; CH3; CH2 и CH3; CH1 и CH3, любой или все из которых могут быть получены необязательно с шарнирной областью, с использованием любой комбинации вариантов гетеродимеризации, описанных в данном документе.

В частности, форматы, изображенные на фиг. 1, представляют собой антитела, обычно называемые "гетеродимерными антителами", что означает, что белок имеет по меньшей мере две ассоциированные Fc-последовательности, подвергающиеся самосборке в гетеродимерный Fc-домен.

Химерные и гуманизированные антитела

В некоторых вариантах осуществления антитело может представлять собой комбинацию от разных видов, например, химерное антитело и/или гуманизированное антитело. Как правило, как "химерные антитела", так и "гуманизированные антитела" относятся к антителам, в которых объединены области из более чем одного вида. Например, "химерные антитела" традиционно содержат переменную область(переменные области) от мыши (или в некоторых случаях крысы) и константную область(константные области) от человека. "Гуманизированные антитела" обычно относятся к антителам, не являющимся человеческими, в которых каркасные области переменного домена заменены последовательностями, обнаруживаемыми в антителах человека. Как правило в случае гуманизированного антитела все антитело, за исключением CDR, кодируется полинуклеотидом человеческого происхождения или идентично такому антителу, за исключением его CDR. CDR, некоторые или все из которых кодируются нуклеиновыми кислотами, происходящими из организма, не являющимся человеческим, прививают в каркас бета-листа переменной области антитела человека с созданием антитела, специфичность которого определяется привитыми CDR. Создание таких антител описано, например, в WO 92/11018, Jones, 1986, Nature 321:522-525, Verhoeven et al., 1988, Science 239:1534-1536, все полностью включены посредством ссылки. "Обратная мутация" выбранных акцепторных остатков каркаса к соответствующим донорным остаткам часто требуется для восстановления аффинности, которая утрачивается в исходной привитой конструкции (US 5530101; US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 6180370; US 5859205; US 5821337; US 6054297; US 6407213, все полностью включены посредством ссылки). Гуманизированное антитело в оптимальном случае также будет содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, как правило, иммуноглобулина человека, и, таким образом, как правило, будет содержать Fc-область человека. Гуманизированные антитела могут быть также получены с использованием мышей с генетически сконструированными клетками иммунной системы. Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654, полностью включена посредством ссылки. Различные методики и способы гуманизации и реконструирования антител, не являющихся человеческими, хорошо известны в данной области (см. Tsurushita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA) и ссылки, цитируемые в данном документе, все полностью включены посредством ссылки). Способы гуманизации включают без ограничения способы, описанные в Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988; Nature 332:323-329; Verhoeven et al., 1988, Science, 239:1534-1536; Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci, USA 86:10029-33; He et al., 1998, J. Immunol. 160:1029-1035; Carter et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:4285-9; Presta et al., 1997, Cancer Res. 57(20):4593-9; Gorman et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4181-4185; O'Connor et al., 1998, Protein Eng 11:321-8, все полностью включены посредством ссылки. Гуманизация или другие способы снижения иммуногенности переменных областей антитела, не являющегося человеческим, могут включать в себя способы изменения поверхности, как описано, например, в Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973, полностью включенной посредством ссылки.

В конкретных вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению содержат переменную область тяжелой цепи от гена, кодирующего тяжелую цепь иммуноглобулина конкретной зародышевой линии, и/или переменную область легкой цепи от гена, кодирующего легкую цепь иммуноглобулина конкретной зародышевой линии. Например, такие антитела могут содержать или состоять из антитела человека, содержащего переменные области тяжелой или легкой цепи, которые "представля-

ют собой продукт" или "получены из" последовательности конкретной зародышевой линии. Антитело человека, которое "представляет собой продукт" или "получено из" последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, может быть идентифицировано как таковое посредством сравнения аминокислотной последовательности антитела человека с аминокислотными последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека и отбора последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, которая является самой близкой (т.е. имеет самый большой % идентичности) к последовательности антитела человека. Антитело человека, которое "представляет собой продукт" или "получено из" последовательности иммуноглобулина конкретной зародышевой линии человека может содержать аминокислотные отличия в сравнении с последовательностью зародышевой линии, возникшие вследствие, например, естественных соматических мутаций или преднамеренного введения сайт-направленной мутации. Однако аминокислотная последовательность гуманизированного антитела обычно по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека, и содержит аминокислотные остатки, по которым идентифицируют антитело как полученное из последовательностей человека при сравнении с аминокислотными последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии других видов (например, последовательностями зародышевой линии мышей). В некоторых случаях аминокислотная последовательность гуманизированного антитела может быть по меньшей мере на 95, 96, 97, 98 или 99%, или даже по меньшей мере на 96, 97, 98 или 99% идентичной аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии. Как правило, гуманизированное антитело, полученное из конкретной последовательности зародышевой линии человека будет демонстрировать не более 10-20 аминокислотных отличий по сравнению с аминокислотной последовательностью, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека (перед введением туда каких-либо асимметричных вариантов, вариантов с измененной pI и вариантов с нарушением; то есть, количество вариантов перед введением вариантов по настоящему изобретению, как правило, является низким). В некоторых случаях гуманизированное антитело может демонстрировать не более 5 или даже не более 4, 3, 2 аминокислотных отличий или не более 1 аминокислотного отличия по сравнению с аминокислотной последовательностью, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека (опять-таки, перед введением туда каких-либо асимметричных вариантов, вариантов с измененной pI и вариантов с нарушением; то есть, количество вариантов перед введением вариантов по настоящему изобретению, как правило, является низким).

В одном варианте осуществления исходное антитело имело созревшую аффинность, как известно из уровня техники. Способы на основе структуры можно использовать для гуманизации и обеспечения созревания аффинности, например, как описано в USSN 11/004590. Способы на основе отбора можно использовать для гуманизации и/или обеспечения созревания аффинности вариативных областей антител, включая без ограничения способы, описанные в Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611-22618; Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910-8915; Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10): 753-759, все полностью включенные посредством ссылки. Другие способы гуманизации могут включать прививание только части CDR, включая без ограничения способы, описанные в USSN 09/810,510; Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084, все полностью включенные посредством ссылки.

IV. Гетеродимерные антитела.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные антитела, которые основаны на применении двух различных последовательностей вариантных Fc тяжелой цепи, которые будут подвергаться самосборке с образованием гетеродимерных Fc-доменов и гетеродимерных антител.

Настоящее изобретение относится к новым конструкциям для получения гетеродимерных антител, которые обеспечивают связывание с более чем одним антигеном или лигандом, например, обеспечивают биспецифическое связывание. Конструкции гетеродимерных антител основаны на самоорганизующейся природе двух Fc-доменов тяжелых цепей антител, например, двух "мономеров", которые собираются в "димер". Гетеродимерные антитела получают путем изменения аминокислотной последовательности каждого мономера, как более подробно описано ниже. Таким образом, настоящее изобретение в целом относится к созданию гетеродимерных антител, которые могут совместно контактировать с антигенами несколькими путями, что обусловлено аминокислотными вариантами в константных областях, которые различаются в каждой цепи, с целью содействия образованию гетеродимера и/или обеспечения возможности легкой очистки гетеродимеров от гомодимеров.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает биспецифические антитела. Текущей проблемой в технологиях антител является стремление получить "биспецифические" антитела, которые связываются с двумя разными антигенами одновременно, что в целом позволяет приблизить различные антигены и приводит к получению новых функциональных характеристик и новых методов терапии. В целом, эти антитела получают путем включения генов для каждой тяжелой и легкой цепи в клетку-хозяева. Это обычно приводит к образованию желаемого гетеродимера (A-B), а также двух гомодимеров (A-A и B-B (не считая выхода гетеродимеров легкой цепи)). Однако основным препятствием при образовании бис-

пецифических антител является сложность очистки гетеродимерных антител от гомодимерных антител и/или смещения в сторону образования гетеродимера относительно образования гомодимеров.

Существует ряд механизмов, которые можно применять для получения гетеродимеров по настоящему изобретению. Кроме того, как будет понятно специалистам в данной области, эти механизмы можно комбинировать для обеспечения высокой степени гетеродимеризации. Таким образом, аминокислотные варианты, которые приводят к получению гетеродимеров, упоминаются как "варианты гетеродимеризации". Как обсуждается ниже, варианты гетеродимеризации могут включать в себя стерические варианты (например, описанные ниже варианты "выступы и впадины" или "асимметричные", и варианты "пар по заряду", описанные ниже), а также "варианты с измененной pI", которые позволяют очистить гетеродимеры от гомодимеров. Как в целом описано в WO2014/145806, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, и, в частности, для обсуждения "вариантов гетеродимеризации" ниже, пригодные механизмы гетеродимеризации включают в себя "выступы и впадины" ("KIN"; иногда в данном документе "асимметричные" варианты (см. обсуждение в WO2014/145806), "электростатическое наведение" или "пары по заряду", описываемые в WO2014/145806, варианты с измененной pI, описанные в WO2014/145806, и общие дополнительные варианты Fc, описанные в WO2014/145806 и ниже.

В настоящем изобретении существует несколько основных механизмов, которые могут обеспечить легкую очистку гетеродимерных антител; один основан на применении вариантов с измененной pI, так что каждый мономер характеризуется отличной pI, что позволяет проводить очистку на основе изоэлектрической точки димерных белков А-А, А-В и В-В. Альтернативно, некоторые форматы каркасов, такие как "тройной F"-формат, позволяют также проводить разделение по размеру. Как дополнительно описано ниже, можно также "сместить" образование гетеродимеров относительно гомодимеров. Таким образом, комбинация вариантов стерической гетеродимеризации и вариантов pI или пар по заряду находит особое применение в настоящем изобретении.

В целом, варианты осуществления конкретного применения в настоящем изобретении основаны на наборах вариантов, которые включают в себя асимметричные варианты, которые вызывают гетеродимеризацию вместо гомодимеризации, в сочетании с вариантами с измененной pI, которые увеличивают разность pI между двумя мономерами.

Кроме того, как более подробно описано ниже, в зависимости от формата гетеродимерного антитела варианты с измененной pI могут содержаться либо в константных и/или Fc-доменах мономера или заряженных линкерах, либо можно применять междоменные линкеры или линкеры scFv. То есть каркасы, в которых используются scFv, такие как тройной F-формат, могут включать заряженные линкеры scFv (положительно или отрицательно), которые обеспечивают дополнительное повышение pI для целей очистки. Как будет понятно специалистам в данной области, некоторые тройные F-форматы пригодны только лишь с заряженными линкерами scFv и без дополнительных регулировок pI, хотя настоящее изобретение в действительности предусматривает варианты с измененной pI, которые находятся в одном или обоих мономерах и/или также заряженных междоменных линкерах. Кроме того, дополнительное аминокислотное конструирование для получения альтернативных функциональных характеристик может также обеспечивать изменения pI, например, в случае Fc-, FcRn- и КО-вариантов.

В настоящем изобретении, в котором используют pI в качестве механизма разделения для обеспечения очистки гетеродимерных белков, аминокислотные варианты можно вводить в один или оба мономерных полипептида; то есть pI одного из мономеров (обозначаемых в данном документе для простоты как "мономер А") можно сконструировать отдельно от мономера В или изменить оба сдвига мономеров А и В с увеличением pI мономера А и уменьшением pI мономера В. Как более подробно описано ниже, изменения pI любого или обоих мономеров можно выполнить путем удаления или добавления заряженного остатка (например, нейтральную аминокислоту заменяют положительно или отрицательно заряженным аминокислотным остатком, например глицин на глутаминовую кислоту), замены заряженного остатка с положительного или отрицательного на противоположный заряд (аспарагиновой кислоты на лизин) или замены заряженного остатка на нейтральный остаток (например, потеря заряда; лизин на серин). Ряд этих вариантов показан на фигурах.

Соответственно, этот вариант осуществления настоящего изобретения предусматривает создание достаточного изменения pI по меньшей мере одного из мономеров, так что гетеродимеры можно отделить от гомодимеров. Как будет понятно специалистам в данной области и как обсуждается ниже, это можно выполнить с применением константной области тяжелой цепи "дикого типа" и вариативной области, которая была сконструирована с увеличением или уменьшением ее pI (wt A- +V или wt A- -B), или путем увеличения одной области и уменьшения другой области (A+ -B- или A-B+).

Таким образом, в целом, компонентом некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения являются аминокислотные варианты в константных областях антител, которые направлены на изменение изоэлектрической точки (pI) по меньшей мере одного, если не обоих, из мономеров димерного белка с образованием "антител с измененной pI" путем включения аминокислотных замен ("варианты с измененной pI" или "замены с изменением pI") в один или оба мономера. Как показано в данном документе, отделение гетеродимеров от двух гомодимеров может быть достигнуто, если pI двух мономеров отличаются всего на 0,1 единицы pH, при этом каждый из 0,2, 0,3, 0,4 и 0,5 или выше находят применение.

ние в настоящем изобретении.

Как будет понятно специалистам в данной области, количество вариантов с измененной pI, которые должны быть включены в каждый или оба мономера с целью получения хорошего разделения, будет частично зависеть от исходной pI компонентов, например, в тройном F-формате, исходной pI scFv и Fab, представляющих интерес. То есть чтобы определить, какой мономер необходимо сконструировать или в каком "направлении" (например, более положительный или более отрицательный), вычисляют последовательности Fv для двух антигенов-мишеней и исходя из этого принимают решение. Как известно из уровня техники, разные Fv будут иметь разные исходные pI, которые используются в настоящем изобретении. В целом, как описано в данном документе, pI подстраивают таким образом, чтобы получить общую разность pI для каждого мономера по меньшей мере приблизительно 0,1 log, при этом предпочтительным является 0,2-0,5, как описано в данном документе.

Кроме того, как будет понятно специалистам в данной области и как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления гетеродимеры можно отделить от гомодимеров на основе размера. Как показано, например, на фиг. 1, некоторые из форматов позволяют разделять гетеродимеры и гомодимеры на основе размера.

В случае, когда варианты с измененной pI применяют для достижения гетеродимеризации, при применении константной области(константных областей) тяжелой цепи(тяжелых цепей) обеспечивается более модульный подход к конструированию и очистке биспецифических белков, включая антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления варианты гетеродимеризации (включая варианты гетеродимеризации с асимметрией и очисткой) не включены в переменные области, так что должно быть сконструировано каждое отдельное антитело. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления вероятность иммуногенности как результата применения вариантов с измененной pI значительно снижается при внесении вариантов с измененной pI из разных изотипов IgG, так что pI изменяется без привнесения значительной иммуногенности. Таким образом, дополнительной проблемой, которая должна быть решена, является выявление константных доменов с низкой pI и высоким содержанием последовательностей человека, например, сведение к минимуму или устранение не являющихся человеческими остатков в любом конкретном положении.

Дополнительным преимуществом, которое может возникнуть при данном подстраивании pI, является также увеличение периода полужизни в сыворотке и повышение связывания FcRn. То есть как описано в USSN 13/194904 (включенном посредством ссылки во всей своей полноте), снижение pI константных доменов антитела (включая домены, обнаруженные в антителах слияния и Fc-гибридах) может приводить к более длительному удерживанию в сыворотке *in vivo*. Эти варианты с измененной pI для увеличения периода полужизни в сыворотке также способствуют изменению pI для очистки.

Кроме того, следует отметить, что варианты с измененной pI вариантов гетеродимеризации дают дополнительное преимущество для аналитических методов и процесса контроля качества биспецифических антител, так как способность устранять, минимизировать и распознавать присутствие гомодимеров является существенной. Аналогично, важной является способность достоверно тестировать воспроизводимость получения гетеродимерных антител.

Варианты гетеродимеризации

Настоящее изобретение предусматривает гетеродимерные белки, в том числе гетеродимерные антитела во множестве форматов, для которых применяются гетеродимерные варианты, обеспечивающие образование гетеродимера и/или очистку от гомодимеров.

Существует ряд подходящих пар наборов асимметричных вариантов гетеродимеризации. Эти варианты входят в "пары" "наборов". То есть один набор из пары включается в первый мономер, а другой набор из пары включается во второй мономер. Следует отметить, что эти наборы не обязательно ведут себя как варианты "выступы и впадины" с взаимным соответствием между остатком в одном мономере и остатком в другом; то есть эти пары наборов образуют поверхность контакта между двумя мономерами, которая содействует образованию гетеродимера и препятствует образованию гомодимера, обеспечивая процент гетеродимеров, которые самопроизвольно образуются в биологических условиях, превышающий 90%, а не ожидаемые 50% (25% гомодимер A/A: 50% гетеродимер A/B: 25% гомодимер B/B).

Стерические варианты

В некоторых вариантах осуществления образование гетеродимеров можно облегчить путем добавления стерических вариантов. То есть при изменении аминокислот в каждой тяжелой цепи разные тяжелые цепи с большей вероятностью связываются с образованием гетеродимерной структуры, чем с образованием гомодимеров с теми же аминокислотными последовательностями Fc. Подходящие стерические варианты представлены на фиг. 29.

Также необязательно можно применять один из механизмов, обычно упоминаемый в данной области техники как "выступы и впадины" и относящийся к конструированию в отношении аминокислот, который обеспечивает создание стерических воздействий для предпочтительного образования гетеродимера и невыгодного образования гомодимера; его иногда называют "выступы и впадины", как описано в USSN 61/596846, Ridgway et al., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell et al., J. Mol. Biol. 1997 270:26; в патенте США № 8216805, все из которых включены в данный документ посредством ссылки во всей

своей полноте. На Фиг. х определен ряд пар "мономер А - мономер В", которые относятся к "выступам и впадинам". Кроме того, как описано в Merchant et al., Nature Biotech. 16:677 (1998), эти полученные в результате мутаций "выступы и впадины" можно комбинировать с дисульфидными связями с образованием асимметрии при гетеродимеризации.

Дополнительный механизм, который находит применение при получении гетеродимеров, иногда называют "электростатическим наведением", как описано в Gunasekaran et al., J. Biol. Chem. 285(25):19637 (2010), включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Это иногда упоминается в данном документе как "пары по заряду". В данном варианте осуществления изменяют явление электростатики для сдвига образования в сторону гетеродимеризации. Как будет понятно специалистам в данной области, они могут также оказывать влияние на pI и, следовательно, на очистку, и поэтому в некоторых случаях также могут рассматриваться в качестве вариантов с измененной pI. Однако поскольку их создавали для усиления гетеродимеризации и не применяли в качестве инструмента для очистки, их классифицируют как "стерические варианты". Они включают без ограничения D221E/P228E/L368E в паре с D221R/P228R/K409R (т.е. они представляют собой "соответствующие мономерам наборы") и C220E/P228E/368E в паре с C220R/E224R/P228R/K409R.

Дополнительные варианты мономера А и мономера В, которые можно комбинировать с другими вариантами, необязательно и независимо в любом количестве, такими как варианты с измененной pI, описанные в данном документе, или другими стерическими вариантами, показаны на фиг. 37 в US 2012/0149876, фигура и пояснение и SEQ ID NO которых специально включены в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления стерические варианты, описанные в данном документе, могут быть необязательно и независимо включены с любым вариантом с измененной pI (или другими вариантами, такими как Fc-варианты, FcRn-варианты и т.д.) в один или оба мономера и могут быть независимо и необязательно включены в белки по настоящему изобретению или исключены из них.

Список подходящих асимметричных вариантов представлен на фиг. 29, а на фиг. 34 показаны некоторые пары, особенно применимые во многих вариантах осуществления. Особенно пригодными во многих вариантах осуществления являются пары наборов, включающие без ограничения S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q. В отношении номенклатуры пара "S364K/E357Q: L368D/K370S" означает, что один из мономеров имеет двойной набор вариантов S364K/E357Q, а другой имеет двойной набор вариантов L368D/K370S.

Варианты на основе pI (изоэлектрическая точка) для гетеродимеров

В целом, как будет понятно специалистам в данной области, существуют две общие категории вариантов на основе pI: те, которые увеличивают pI белка (щелочные изменения) и те, которые уменьшают pI белка (кислотные изменения). Как описано в данном документе, могут быть выполнены все комбинации этих вариантов: один мономер может быть дикого типа или вариантом, который не демонстрирует существенных отличий pI по сравнению с диким типом, а другой может быть либо более щелочным, либо более кислым. Альтернативно, изменяют каждый мономер, один на более щелочной, а другой на более кислой.

Предпочтительные комбинации вариантов с измененной pI показаны на фиг. 30. Как указано в данном документе и показано на фигурах, эти изменения показаны относительно IgG1, но все изотипы можно изменить таким образом, а также гибриды изотипов. В случае, когда константный домен тяжелой цепи происходит из IgG2-4, можно также применять R133E и R133Q.

В одном варианте осуществления, например, в формате "открывалки", предпочтительная комбинация вариантов с измененной pI имеет один мономер (сторона отрицательного Fab), содержащий варианты 208D/295E/384D/418E/421D (N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, если относительно IgG1 человека), и второй мономер (сторона положительного scFv), содержащий положительно заряженный линкер scFv, в том числе (GKPGS)₄. Однако, как будет понятно специалистам в данной области, первый мономер включает CH1-домен, в том числе положение 208. Соответственно, в конструкциях, которые не включают CH1-домен (например, для гетеродимерных Fc-гибридных белков, в которых не используется CH1-домен при одном из доменов, например, в формате с двойным scFv), предпочтительный набор отрицательных Fc-вариантов с измененной pI включает варианты 295E/384D/418E/421D (Q295E/N384D/Q418E/N421D, если относительно IgG1 человека).

Варианты легкой цепи антител-гетеродимеров

В случае гетеродимеров на основе антител, например, где по меньшей мере один из мономеров содержит легкую цепь в дополнение к домену тяжелой цепи, варианты с измененной pI также могут быть выполнены в легкой цепи. Аминокислотные замены для снижения pI легкой цепи включают без ограничения K126E, K126Q, K145E, K145Q, N152D, S156E, K169E, S202E, K207E и добавление пептида DEDE на С-конце легкой цепи. Изменения в этой категории на основе константного домена легкой лямбда-цепи включают одну или несколько замен по R108Q, Q124E, K126Q, N138D, K145T и Q199E. Кроме того, можно также увеличить pI легких цепей.

Изотипические варианты

Кроме того, многие варианты осуществления настоящего изобретения основаны на "импорте" влияющих на pI аминокислот в определенных положениях из одного изотипа IgG в другой, тем самым снижая или исключая вероятности введения нежелательной иммуногенности в варианты. Некоторые из них показаны на фиг. 21 из публикации заявки на патент США 2014/0370013, включенной в данный документ посредством ссылки. То есть IgG1 является распространенным изотипом для терапевтических антител по целому ряду причин, включая высокую эффекторную функцию. Однако константная область тяжелой цепи IgG1 имеет более высокую pI, чем у IgG2 (8,10 по сравнению с 7,31). Путем введения остатков IgG2 в определенные положения в основную цепь IgG1, pI полученного мономера понижается (или повышается) и дополнительно он характеризуется более продолжительным периодом полужизни в сыворотке. Например, IgG1 содержит глицин (pI 5,97) в положении 137, а IgG2 содержит глутаминовую кислоту (pI 3,22); введение глутаминовой кислоты будет влиять на pI полученного белка. Как описано ниже, обычно требуется ряд аминокислотных замен, чтобы существенно повлиять на pI вариантного антитела. Однако следует отметить, как обсуждается ниже, что даже изменения в молекулах IgG2 позволяют увеличить период полужизни в сыворотке.

В других вариантах осуществления выполняют неизотипические аминокислотные изменения либо для снижения общего зарядового состояния получаемого белка (например, путем замены аминокислоты с более высокой pI на аминокислоту с более низкой pI), либо для обеспечения адаптации структуры в отношении стабильности и т.д., как более подробно описано ниже.

Кроме того, при конструировании с учетом pI константных доменов как тяжелых, так и легких цепей можно наблюдать значительные изменения в каждом мономере гетеродимера. Как обсуждается в данном документе, pI двух мономеров, отличающиеся по меньшей мере на 0,5, могут обеспечить возможность разделения с помощью ионообменной хроматографии или изоэлектрического фокусирования или других способов, чувствительных к изоэлектрической точке.

Расчет pI

Значение pI каждого мономера может зависеть от pI константного домена тяжелой цепи варианта и pI всего мономера, включая константный домен тяжелой цепи варианта и партнера по слиянию. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изменение pI рассчитывают по константному домену тяжелой цепи варианта с применением таблицы, приведенной на фиг. 19 публикации заявки на патент США 2014/0370013. Как обсуждается в данном документе, выбор мономера для конструирования обычно определяется по pI, свойственной для областей Fv и каркаса. Альтернативно, можно сравнить pI каждого мономера.

Варианты с измененной pI, которые также обеспечивают лучшее связывание FcRn *in vivo*

В случае, когда вариант с измененной pI уменьшает pI мономера, тот может получить дополнительное преимущество в виде улучшения в отношении удержания в сыворотке *in vivo*.

Несмотря на то, что Fc-области все еще исследуются, считается, что они характеризуются более продолжительным периодом полужизни *in vivo*, поскольку связывание с FcRn при pH 6 в эндосоме изолирует Fc (Ghetie and Ward, 1997 Immunol Today. 18(12): 592-598, полностью включена посредством ссылки). Затем эндосомальный компартмент возвращает Fc на поверхность клетки. Как только компартмент открывается во внеклеточное пространство, более высокий pH, ~ 7,4, вызывает высвобождение Fc обратно в кровь. Dall' Asqua и соавторы показали, что у мышей Fc-мутанты с повышенной степенью связывания FcRn при pH 6 и pH 7,4 в действительности наблюдались в пониженных концентрациях в сыворотке и характеризовались таким же периодом полужизни, как Fc дикого типа (Dall' Asqua et al. 2002, J. Immunol. 169:5171-5180, полностью включена посредством ссылки). Считается, что повышенная аффинность Fc к FcRn при pH 7,4 препятствует высвобождению Fc обратно в кровь. Следовательно, мутации Fc, которые будут увеличивать период полужизни Fc *in vivo*, в идеальном случае будут увеличивать степень связывания FcRn при более низком pH, в то же время обеспечивая высвобождение Fc при более высоком pH. Аминокислота гистидин изменяет свое зарядовое состояние в диапазоне pH от 6,0 до 7,4. Поэтому неудивительно, что остатки His можно найти в важных положениях в комплексе Fc/FcRn.

Недавно было высказано предположение, что антитела с переменными областями, которые характеризуются более низкими изоэлектрическими точками, также могут характеризоваться более длительным периодом полужизни в сыворотке (Igawa et al., 2010 PEDS. 23(5): 385-392, полностью включена посредством ссылки). Однако механизм этого явления еще слабо изучен. Более того, переменные области отличаются от антитела к антителу. Варианты константной области со сниженной pI и увеличенным периодом полужизни обеспечили бы более модульный подход к улучшению фармакокинетических свойств антител, описанных в данном документе.

Дополнительные Fc-варианты для дополнительной функциональной характеристики

В дополнение к аминокислотным вариантам с измененной pI существует ряд пригодных аминокислотных модификаций Fc, которые можно выполнить по ряду причин, включая без ограничения изменение связывания с одним или несколькими рецепторами FcγR, измененное связывание с рецепторами FcRn и т.д.

Соответственно, белки по настоящему изобретению могут включать аминокислотные модифика-

ции, в том числе, варианты гетеродимеризации, описанные в данном документе, которые включают в себя варианты с измененной pI и стерические варианты. Каждый набор вариантов может быть независимо и необязательно включен в любой конкретный гетеродимерный белок или исключен из него.

FcγR-варианты

Соответственно, существует ряд пригодных замен в Fc, которые можно выполнить для изменения связывания с одним или несколькими FcγR-рецепторами. Могут быть пригодными замены, которые приводят к повышению степени связывания, а также к снижению степени связывания. Например, известно, что повышенная степень связывания с FcγRIIIa обычно приводит к повышению ADCC (антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности, клеточноопосредованной реакции, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают лизис клетки-мишени). Аналогичным образом, в некоторых случаях также может быть полезным снижение степени связывания с FcγRIIb (ингибиторный рецептор). Аминокислотные замены, которые находят применение в настоящем изобретении, включают замены, перечисленные в USSN 11/124620 (в частности, фигура 41), 11/174287, 11/396,495, 11/538406, все из которых явным образом включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте и, в частности, для раскрытых в данном документе вариантов. Конкретные варианты, которые находят применение, включают без ограничения 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 243A, 243L, 264A, 264V и 299T.

Кроме того, имеют место дополнительные замены в Fc, которые находят применение для повышения степени связывания с рецептором FcRn и увеличения времени полужизни в сыворотке, как, в частности, раскрыто в USSN 12/341769, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, в том числе без ограничения 434S, 434A, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I или V/434S, 436V/428L и 259I/308F/428L.

Варианты с нарушением

Аналогичным образом, другую категорию функциональных вариантов представляют собой "варианты с нарушением связывания с FcγR" или "Fc-нокаутные (FcKO или KO)" варианты. В этих вариантах осуществления для некоторых терапевтических применений желательно снизить степень нормального связывания Fc-домена с одним или несколькими или всеми из Fcγ-рецепторов (например, FcγR1, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa и т.д.), или устранить его, чтобы избежать дополнительных механизмов действия. То есть например, во многих вариантах осуществления, особенно при применении биспецифических антител, которые моновалентно связывают CD3, обычно желательно нарушать связывание FcγRIIIa для устранения или значительного снижения ADCC-активности, где один из Fc-доменов содержит один или несколько вариантов с нарушением связывания с Fcγ-рецептором. Эти варианты с нарушением показаны на фиг. 31, и каждый из них может быть независимо и необязательно включен или исключен, причем в предпочтительных аспектах используют варианты с нарушением, выбранные из группы, состоящей из G236R/L328R, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, E233P/L234V/L235A/G236del/S23 9K/A32 7G, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A32 7G и E233P/L234V/L235A/G236del. Следует отметить, что варианты с нарушением, упоминаемые в данном документе, обеспечивают нарушение связывания FcγR, но, как правило, не связывание FcRn.

Комбинация гетеродимерных и Fc-вариантов

Как будет понятно специалистам в данной области, все перечисленные варианты гетеродимеризации (включая асимметричные и/или варианты с измененной pI) можно необязательно и независимо комбинировать любым способом, при условии, что они сохраняют свою "нитевую структуру" или "разделение на мономеры". Кроме того, все эти варианты можно комбинировать в любом из форматов гетеродимеризации.

В случае вариантов с измененной pI, хотя варианты осуществления, находящие конкретное применение, показаны на фигурах, можно создать другие комбинации, следуя основному правилу изменения разности pI между двумя мономерами для облегчения очистки.

Кроме того, любые из вариантов гетеродимеризации, асимметричные и с измененной pI, также независимо и необязательно комбинируют с вариантами с удалением Fc, Fc-вариантами, FcRn-вариантами, как в целом изложено в данном документе.

Пригодные форматы по настоящему изобретению

Как будет понятно специалистам в данной области и более подробно рассмотрено ниже, гетеродимерные белки слияния по настоящему изобретению могут принимать самые разнообразные конфигурации, как в целом показано на фиг. 1. На некоторых фигурах изображены "односторонние" конфигурации, когда один тип специфичности обусловлен одним "плечом" молекулы, а отличающаяся специфичность обусловлена другим "плечом". На других фигурах изображены "двусторонние" конфигурации, когда имеет место по меньшей мере один тип специфичности, обусловленный "верхней частью" молекулы и одна или несколько других видов специфичности обусловлена "нижней частью" молекулы. Таким образом, настоящее изобретение относится к новым композициям иммуноглобулинов, которые контактируют с различными первым и вторым антигеном.

Как будет понятно специалистам в данной области, гетеродимерные форматы по настоящему изобретению могут иметь различные валентности, а также быть биспецифическими. То есть, гетеродимерные антитела по настоящему изобретению могут быть бивалентными и биспецифическими, где один опухолевый антиген-мишень (например, CD3) связывается одним связывающим доменом, а другой опухолевый антиген-мишень (например, CD20, CD38, CD123 и т.д.) связывается вторым связывающим доменом. Гетеродимерные антитела также могут быть трехвалентными и биспецифическими, где первый антиген связывается двумя связывающими доменами, а второй антиген связывается вторым связывающим доменом. Как описано в данном документе, когда CD3 является одним из антигенов-мишеней, предпочтительно, чтобы CD3 связывался только моновалентно, чтобы уменьшить возможные побочные эффекты.

В настоящем изобретении используют антигенсвязывающие домены антитела к CD3, в комбинации с доменами, связывающимися с опухолевым антигеном-мишенью (ТТА). Как будет понятно специалистам в данной области, можно применять любое множество CDR, связывающихся с CD3, вариабельных доменов легкой и тяжелой цепей, Fab и scFv, связывающихся с CD3, как показано на любой из фигур (см., в частности, фигуры 2-7 и фигуру 68). Аналогичным образом, можно применять любой из антигенсвязывающих доменов антитела к ТТА, например, домены, связывающиеся с антигенами CD38, CD20, CD19 и CD123, при этом можно применять любое из CDR, вариабельных доменов легкой и тяжелой цепей, Fab и scFv, изображенных на любой из фигур, необязательно и независимо объединенных в любой комбинации.

Формат "открывалки"

Один гетеродимерный каркас, который находит особое применение в настоящем изобретении, представляет собой "тройной F" или "открывалки" формат каркаса, как показано на фиг. 1А, А и В. В этом варианте осуществления одна тяжелая цепь антитела содержит одноцепочечный Fv ("scFv", как определено ниже), а другая тяжелая цепь представляет собой "обычный" FAb-формат, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи и легкую цепь. Эта структура иногда упоминается в данном документе как "тройной F"-формат (scFv-FAb-Fc) или формат "открывалки" в связи с приблизительным визуальным сходством с открывалкой для бутылок (см. фигуры 1). Две цепи объединяют путем применения аминокислотных вариантов в константных областях (например, Fc-домен, CH1-домен и/или шарнирная область), которые способствуют образованию гетеродимерных антител, как более подробно описано ниже.

Существует несколько очевидных преимуществ "тройного F"-формата по настоящему изобретению. Как известно из уровня техники, аналоги антител на основе двух конструкций scFv часто имеют проблемы со стабильностью и агрегацией, которые можно уменьшить согласно настоящему изобретению путем добавления "обычного" спаривания тяжелой и легкой цепей. Кроме того, в отличие от форматов на основе двух тяжелых цепей и двух легких цепей, проблема, связанная с неправильным спариванием тяжелых и легких цепей (например, спаривание тяжелой цепи 1 с легкой цепью 2 и т.д.) отсутствует.

Многие из вариантов осуществления, изложенных в данном документе, в целом основаны на формате "открывалки", который содержит первый мономер, содержащий scFv, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, ковалентно соединенные с помощью линкера scFv (заряженного во многих, но не во всех случаях), где scFv ковалентно присоединен к N-концу первого Fc-домена обычно через междоменный линкер (который, как описано в данном документе, может быть незаряженным или заряженным). Второй мономер формата "открывалки" представляет собой тяжелую цепь, и композиция дополнительно содержит легкую цепь.

В целом, во многих предпочтительных вариантах осуществления scFv представляет собой домен, который связывается с CD3, при этом Fab тяжелой и легкой цепей связывается с другим ТТА.

Кроме того, Fc-домены по настоящему изобретению обычно содержат асимметричные варианты (например, набор аминокислотных замен, как показано на фиг. 29 и фиг. 34, причем особенно пригодные асимметричные варианты выбраны из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q), необязательно, варианты с нарушением (включая показанные на фиг. 31), необязательно, заряженные линкеры scFv (включая показанные на фиг. 33), и тяжелая цепь содержит варианты с измененной pI (включая показанные на фиг. 30).

В некоторых вариантах осуществления любая из последовательностей v_H и v_L, представленных в данном документе (включая все последовательности v_H и v_L, представленные на фигурах, в том числе те, что направлены на CD20, CD38 и CD123), может быть добавлена к форматам основной цепи "открывалки" из фигуры 162, как "сторона Fab", с применением любой из последовательностей scFv к CD3, показанных на фигурах. Последовательности антител к CD3, нашедшие конкретное применение в данных вариантах осуществления, представляют собой антитело к CD3_H1.30_L1.47, антитело к CD3_H1.32_L1.47, антитело к CD3_H1.89_L1.47, антитело к CD3_H1.90_L1.47, антитело к CD3_H1.33_L1.47 и антитело к CD3_H1.31_L1.47, присоединенное как сторона scFv основных цепей, показанных на фиг. 162.

Настоящее изобретение предусматривает форматы "открывалки", где последовательности scFv к CD3 являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68, включая любую комбинацию с форматами ос-

новой цепи из фиг. 162. Кроме того, любая из последовательностей *vh* и *vl* к CD3, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68, может применяться как сторона Fab.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы открывалки с антигенсвязывающими доменами антитела к CD38, где последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фигурах, включая фиг. 8-10. Как указано выше, каждая из последовательностей *vh* и *vl* к CD38 может быть либо стороной Fab, либо стороной scFv, и может быть связана как один из антигенсвязывающих доменов формата "открывалки", включая те, что представлены на фиг. 162. Если последовательности антител к CD38 представляют собой сторону Fab, то может применяться любая из последовательностей scFv к CD3 из данных фигур, особенно включая антитело к CD3_H1.30_L1.47, антитело к CD3_H1.32_L1.47, антитело к CD3_H1.89_L1.47, антитело к CD3_H1.90_L1.47, антитело к CD3_H1.33_L1.47 и антитело к CD3_H1.31_L1.47, прикрепленное как сторона scFv основных цепей, показанных на фиг. 162.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы открывалки с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах. Как указано выше, каждая из последовательностей *vh* и *vl* к CD20 может быть либо стороной Fab, либо стороной scFv, и может быть связана как один из антигенсвязывающих доменов формата "открывалки", включая те, что представлены на фиг. 162. Если последовательности антител к CD20 представляют собой сторону Fab, то может применяться любая из последовательностей scFv к CD3 из данных фигур, особенно включая антитело к CD3_H1.30_L1.47, антитело к CD3_H1.32_L1.47, антитело к CD3_H1.89_L1.47, антитело к CD3_H1.90_L1.47, антитело к CD3_H1.33_L1.47 и антитело к CD3_H1.31_L1.47, прикрепленное как сторона scFv основных цепей, показанных на фиг. 162.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы открывалки с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах. Как указано выше, каждая из последовательностей *vh* и *vl* к CD123 может быть либо стороной Fab, либо стороной scFv, и может быть связана как один из антигенсвязывающих доменов формата "открывалки", включая те, что представлены на фиг. 162. Если последовательности антител к CD123 представляют собой сторону Fab, то может применяться любая из последовательностей scFv к CD3 из данных фигур, особенно включая антитело к CD3_H1.30_L1.47, антитело к CD3_H1.32_L1.47, антитело к CD3_H1.89_L1.47, антитело к CD3_H1.90_L1.47, антитело к CD3_H1.33_L1.47 и антитело к CD3_H1.31_L1.47, прикрепленное как сторона scFv основных цепей, показанных на фиг. 162.

Формат mAb-Fv

Один гетеродимерный каркас, который находит особое применение в настоящем изобретении, представляет собой формат mAb-Fv, показанный на фиг. 1. В этом варианте осуществления указанный формат основан на применении С-концевого присоединения "дополнительного" варибельного домена тяжелой цепи к одному мономеру и С-концевого присоединения "дополнительного" варибельного домена легкой цепи к другому мономеру, с образованием таким образом третьего антигенсвязывающего домена, где Fab-фрагменты двух мономеров связывают ТТА, а "дополнительный" scFv-домен связывает CD3.

В данном варианте осуществления первый мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый варибельный домен тяжелой цепи и первый константный домен тяжелой цепи, содержащий первый Fc-домен, с первым варибельным доменом легкой цепи, ковалентно присоединенным к С-концу первого Fc-домена с использованием междоменного линкера (*vh1*-CH1-шарнир-CH2-CH3-[необязательный линкер]-*vl2*). Второй мономер содержит второй варибельный домен тяжелой цепи, второй константный домен тяжелой цепи, содержащий второй Fc-домен, и третий варибельный домен тяжелой цепи, ковалентно присоединенный к С-концу второго Fc-домена с применением междоменного линкера (*vj1*-CH1-шарнир-CH2-CH3-[необязательный линкер]-*vh2*). Два присоединенных к С-концу варибельных домена составляют scFv, который связывает CD3 (поскольку менее предпочтительно иметь бивалентное CD3-связывание). В этом варианте осуществления дополнительно используют общую легкую цепь, содержащую варибельный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи, которая соединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают ТТА. Что касается множества вариантов осуществления в данном документе, эти конструкции включают в себя асимметричные варианты, варианты с измененной *pI*, варианты с нарушением, варианты с дополнительным Fc и т.д., что является желательным и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, в которых последовательности scFv к CD3 являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, в которых последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD19, где последовательности, связывающиеся с CD19, являются такими, как показано на фи-

гурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, содержащие варианты с нарушением, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, содержащие асимметричные варианты, как показано на фигурах 29 и 34.

mAb-scFv

Один гетеродимерный каркас, который находит особое применение в настоящем изобретении, представляет собой формат mAb-scFv, показанный на фиг. 1. В этом варианте осуществления указанный формат основан на применении С-концевого присоединения scFv к одному из мономеров, с образованием таким образом третьего антигенсвязывающего домена, где Fab-фрагменты двух мономеров связывают ТТА и "дополнительный" scFv-домен связывает CD3. Таким образом, первый мономер содержит первую тяжелую цепь (содержащую вариабельный домен тяжелой цепи и константный домен) с ковалентно присоединенным к С-концу scFv, содержащим вариабельный домен легкой цепи scFv, линкер scFv и вариабельный домен тяжелой цепи scFv в любой ориентации (vh1-CH1-шарнир-CH2-CH3-[необязательный линкер]-vh2-линкер scFv-v12 или vh1-CH1-шарнир-CH2-CH3-[необязательный линкер]-v12-линкер scFv-vh2). В этом варианте осуществления дополнительно используют общую легкую цепь, содержащую вариабельный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи, которая соединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают ТТА. Что касается множества вариантов осуществления в данном документе, эти конструкции включают в себя асимметричные варианты, варианты с измененной pI, варианты с нарушением, варианты с дополнительным Fc и т.д., что является желательным и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, в которых последовательности scFv к CD3 являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, в которых последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD19, где последовательности, связывающиеся с CD19, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, содержащие варианты с нарушением, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы mAb-Fv, содержащие асимметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Центральный scFv

Один гетеродимерный каркас, который находит особое применение в настоящем изобретении, представляет собой формат с центральным scFv, показанный на фиг. 1. В данном варианте осуществления указанный формат основан на применении вставленного scFv-домена, с образованием таким образом третьего антигенсвязывающего домена, где Fab-фрагменты двух мономеров связывают ТТА, и "дополнительный" scFv-домен связывает CD3. scFv-домен вставляют между Fc-доменом и областью CH1-Fv одного из мономеров, с обеспечением таким образом третьего антигенсвязывающего домена.

В данном варианте осуществления один мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый вариабельный домен тяжелой цепи, CH1-домен (и необязательный шарнир) и Fc-домен, с scFv, содержащим вариабельный домен легкой цепи scFv, линкер scFv и вариабельный домен тяжелой цепи scFv. scFv ковалентно присоединяют между С-концом CH1-домена константного домена тяжелой цепи и N-концом первого Fc-домена с применением необязательных междоменных линкеров (vh1-CH1-[необязательный линкер]-vh2-линкер scFv-v12-[необязательный линкер, включающий шарнир]-CH2-CH3, или с противоположной ориентацией относительно scFv, vh1-CH1-[необязательный линкер]-v12-линкер scFv-vh2-[необязательный линкер, включающий шарнир]-CH2-CH3). Другой мономер представляет собой стандартную сторону Fab. В этом варианте осуществления дополнительно используют общую легкую цепь, содержащую вариабельный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи, которая соединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают ТТА. Что касается множества вариантов осуществления в данном документе, эти конструкции включают в себя асимметричные варианты, варианты с измененной pI, варианты с нарушением, варианты с дополнительным Fc и т.д., что является желательным и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv, в которых последовательности scFv к CD3 являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv, в которых последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD19, где последовательности, связывающиеся с CD19, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv, содержащие варианты с нарушением, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным scFv, содержащие асимметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Формат с центральным Fv

Один гетеродимерный каркас, который находит особое применение в настоящем изобретении, представляет собой формат с центральным Fv, показанный на фиг. 1. В данном варианте осуществления указанный формат основан на применении вставленного scFv-домена, с образованием таким образом третьего антигенсвязывающего домена, где Fab-фрагменты двух мономеров связывают ТТА, и "дополнительный" scFv-домен связывает CD3. scFv-домен вставляют между Fc-доменом и областью CH1-Fv одного из мономеров, обеспечивая таким образом третий антигенсвязывающий домен, где каждый мономер содержит компонент scFv (например, один мономер содержит вариабельный домен тяжелой цепи, а другой содержит вариабельный домен легкой цепи).

В данном варианте осуществления один мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый вариабельный домен тяжелой цепи, CH1-домен, и Fc-домен, и дополнительный вариабельный домен легкой цепи. Домен легкой цепи ковалентно присоединяют между С-концом CH1-домена константного домена тяжелой цепи и N-концом первого Fc-домена с применением междоменных линкеров (vh1-CH1-[необязательный линкер]-v12-шарнир-CH2-CH3). Другой мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый вариабельный домен тяжелой цепи, CH1-домен, и Fc-домен, и дополнительный вариабельный домен тяжелой цепи (vh1-CH1-[необязательный линкер]-vh2-шарнир-CH2-CH3). Домен легкой цепи ковалентно присоединяют между С-концом CH1-домена константного домена тяжелой цепи и N-концом первого Fc-домена с помощью междоменных линкеров.

В этом варианте осуществления дополнительно используют общую легкую цепь, содержащую вариабельный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи, которая соединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают ТТА. Что касается множества вариантов осуществления в данном документе, эти конструкции включают в себя асимметричные варианты, варианты с измененной pI, варианты с нарушением, варианты с дополнительным Fc и т.д., что является желательным и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv, в которых последовательности scFv, связывающиеся с CD3, являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv, в которых последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD19, где последовательности, связывающиеся с CD19, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv, содержащие варианты с нарушением, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с центральным Fv, содержащие асимметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Неполный центральный scFv

Один гетеродимерный каркас, который находит особое применение в настоящем изобретении, представляет собой формат с неполным центральным scFv, показанный на фиг. 1. В данном варианте осуществления один мономер содержит только Fc-домен, тогда как в другом мономере применяют

вставленный scFv-домен, с образованием таким образом второго антигенсвязывающего домена. В этом формате либо Fab-фрагмент связывает ТТА и scFv связывает CD3, или наоборот. scFv-домен вставляют между Fc-доменом и областью CH1-Fv одного из мономеров.

В данном варианте осуществления один мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый вариабельный домен тяжелой цепи, CH1-домен и Fc-домен, при этом scFv содержит вариабельный домен scFv легкой цепи, линкер scFv и вариабельный домен scFv тяжелой цепи. scFv ковалентно присоединяют между C-концом CH1-домена константного домена тяжелой цепи и N-концом первого Fc-домена с помощью междоменных линкеров. Второй мономер содержит Fc-домен. В этом варианте осуществления дополнительно используют легкую цепь, содержащую вариабельный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи, которая соединяется с тяжелой цепью с образованием Fab. Что касается множества вариантов осуществления в данном документе, эти конструкции включают в себя асимметричные варианты, варианты с измененной pI, варианты с нарушением, варианты с дополнительным Fc и т.д., что является желательным и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv, где последовательности scFv, связывающиеся с CD3, являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv, в которых последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD19, где последовательности, связывающиеся с CD19, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv, содержащие варианты с нарушением, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с неполным центральным scFv, содержащие асимметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Форматы с двойным scFv

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv, известные из уровня техники и показанные на фиг. 1.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv, в которых последовательности scFv к CD3 являются такими, как показано на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv, в которых последовательности, связывающиеся с CD38, являются такими, как показано на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD20, где последовательности, связывающиеся с CD20, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD19, где последовательности, связывающиеся с CD19, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv с антигенсвязывающими доменами антитела к CD123, где последовательности, связывающиеся с CD123, являются такими, как показано на фигурах.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv, содержащие варианты с нарушением, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предусмотрены форматы с двойным scFv, содержащие асимметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Настоящее изобретение предусматривает форматы с двойным scFv, содержащие варианты с измененной pI и/или заряженные линкеры scFv (в целом либо один мономер содержит Q295E/N384D/Q418E/N481D, а другой - положительно заряженный scFv линкер, либо они оба содержат противоположно заряженные линкеры scFv).

Антигены-мишени

Биспецифические антитела по настоящему изобретению имеют два разных антигенсвязывающих домена: один, который связывается с CD3 (обычно моновалентно), и другой, который связывается с опухолевым антигеном-мишенью (иногда называемым в данном документе как "ТТА"). Подходящие опухолевые антигены-мишени включают без ограничения CD20, CD38, CD123; ROR1, ROR2, BCMA; PSMA; SSTR2; SSTR5, CD19, FLT3, CD33, PSCA, ADAM 17, CEA, Her2, EGFR, EGFR-vIII, CD30, FOLR1, GD-2, CA-IX, Trop-2, CD70, CD38, мезотелин, EphA2, CD22, CD79b, GPNMB, CD56, CD138, CD52, CD74, CD30, CD123, RON, ERBB2 и EGFR.

"Тройной F"-формат является особенно полезным при целенаправленном воздействии на два (или более) различных антигена. (Как описано в данном документе, это целенаправленное воздействие может представлять собой любую комбинацию моновалентного и бивалентного связывания в зависимости от формата). Таким образом, иммуноглобулины в данном документе предпочтительно контактируют с двумя антигенами-мишенями. Специфичность каждого мономера можно выбрать из приведенных в данном документе перечней. Дополнительные пригодные биспецифические форматы для применения со связывающим доменом антитела к CD3 показаны на фиг. 1.

Конкретные подходящие применения гетеродимерных антител в данном документе представляют собой совместно нацеленные пары, для которых выгодно или крайне важно контактировать с каждым антигеном-мишенью моновалентно. Такими антигенами могут быть, например, иммунные рецепторы, которые активируются при образовании иммунного комплекса. Клеточная активация многих иммунных рецепторов происходит исключительно путем перекрестного связывания, обычно осуществляемого с помощью иммунных комплексов антитело/антиген, или через эффекторную клетку с вовлечением клеток-мишеней. Для некоторых иммунных рецепторов, например сигнального рецептора CD3 на Т-клетках, активация исключительно при контакте с совместно вовлеченной мишенью является крайне важной, так как неспецифическое перекрестное связывание в клинических условиях может вызвать цитокиновую бурю и токсичность. С терапевтической точки зрения, посредством контакта с такими антигенами моновалентно, а не поливалентно, при применении иммуноглобулинов, описанных в данном документе, такая активация происходит только в ответ на перекрестное связывание только в микроокружении первичного антигена-мишени. Способность нацеливаться на два различных антигена с различными валентностями является новым и полезным аспектом настоящего изобретения. Примеры антигенов-мишеней, для которых может быть терапевтически полезным или необходимым моновалентное совместное контактирование, включают без ограничения иммуноактивируемые рецепторы, такие как CD3, FcγR, толл-подобные рецепторы (TLR), такие как TLR4 и TLR9, цитокины, хемокины, рецепторы цитокинов и рецепторы хемокинов. Во многих вариантах осуществления один из антигенсвязывающих сайтов связывается с CD3, и в некоторых вариантах осуществления он представляет собой scFv-содержащий мономер.

Практически на любой антиген можно нацелить иммуноглобулины данного документа, включая без ограничения белки, субъединицы, домены, мотивы и/или эпитопы, принадлежащие к следующему списку антигенов-мишеней, который включает как растворимые факторы, такие как цитокины, так и мембраносвязанные факторы, включая трансмембранные рецепторы: 17-1A, 4-1BB, 4Dc, 6-кето-PGF1a, 8-изо-PGF2a, 8-оксо-dG, аденозиновый рецептор A1, A33, ACE, ACE-2, активин, активин A, активин AB, активин B, активин C, активин RIA, активин RIA ALK-2, активин RIB ALK-4, активин RIIA, активин RUB, ADAM, ADAM10, ADAM12, ADAM15, ADAM17/TACE, ADAM8, ADAM9, ADAMTS, ADAMTS4, ADAMTS5, адрессины, aFGF, ALCAM, ALK, ALK-1, ALK-7, альфа-1-антитрипсин, антагонист альфа-V/бета-1, ANG, Ang, APAF-1, APE, APJ, APP, APRIL, AR, ARC, ART, артемин, анти-Id, ASPARTIC, предсердный натрийуретический фактор, интегрин av/b3, Axl, b2M, B7-1, B7-2, B7-H, стимулятор В-лимфоцитов (BlyS), BACE, BACE-1, Bad, BAFF, BAFF-R, Bag-1, BAK, Bax, BCA-1, BCMA, Bcl, BCMA, BDNF, b-ECGF, bFGF, BID, Bik, BIM, BLC, BL-CAM, BLK, BMP, BMP-2 BMP-2a, остеогенин BMP-3, BMP-4 BMP-2b, BMP-5, BMP-6 Vgr-1, BMP-7 (OP-1), BMP-8 (BMP-8a, OP-2), BMPR, BMPR-1A (ALK-3), BMPR-1B (ALK-6), BRK-2, RPK-1, BMPR-II (BRK-3), BMPs, b-NGF, BOK, бомбезин, нейротрофический фактор мозга, BPDE, BPDE-DNA, BTC, фактор комплемента 3 (C3), C3a, C4, C5, C5a, C10, CA125, CAD-8, кальцитонин, cAMP, раково-эмбриональный антиген (CEA), карцинома-ассоциированный антиген, катепсин А, катепсин В, катепсин С/DPP1, катепсин D, катепсин Е, катепсин Н, катепсин L, катепсин О, катепсин S, катепсин V, катепсин X/Z/P, CBL, CCI, CCK2, CCL, CCL1, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCR, CCR1, CCR10, CCR10, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CD1, CD2, CD3, CD3E, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD27L, CD28, CD29, CD30, CD30L, CD32, CD33 (белки р67), CD34, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD49a, CD52, CD54, CD55, CD56, CD61, CD64, CD66e, CD74, CD80 (B7-1), CD89, CD95, CD123, CD137, CD138, CD140a, CD146, CD147, CD148, CD152, CD164, CEACAM5, CFTR, cGMP, CINC, токсин Clostridium botulinum, токсин Clostridium perfringens, CKb8-l, CLC, CMV, CMV UL, CNTF, CNTN-1, COX, C-Ret, CRG-2, CT-1, CTACK, CTGF, CTLA-4, CX3CL1, CX3CR1, CXCL, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCR, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, цитокератиновый опухолеассоциированный антиген, DAN, DCC, DcR3, DC-SIGN, фактор ускорения распада комплемента, des(1-3)-IGF-I (IGF-1 мозга), Dhh, дигоксин, DNAM-1, ДНКаза, Dpp, DPPIV/CD26, Dtk, ECAD, EDA, EDA-A1, EDA-A2, EDAR, EGF, EGFR (ErbB-1), EMA, EMMPRIN, ENA, рецептор эндотелина, энкефалиназа, eNOS, Eot, эотаксин 1, EpCAM, эфрин B2/EphB4, EPO, ERCC, Е-селектин, ET-1, фактор IIa, фактор VII, фактор VIIIc, фактор IX, белок активации фибробластов (FAP), Fas, FcR1, FEN-1, ферритин, FGF, FGF-19, FGF-2, FGF3, FGF-8, FGFR, FGFR-3, фибрин, FL, FLIP, Flt-3, Flt-4, фолликулостимулирующий

гормон, фракталкин, FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, G250, Gas 6, GCP-2, GCSF, GD2, GD3, GDF, GDF-1, GDF-3 (Vgr-2), GDF-5 (BMP-14, CDMP-1), GDF-6 (BMP-13, CDMP-2), GDF-7 (BMP-12, CDMP-3), GDF-8 (миостатин), GDF-9, GDF-15 (MIC-1), GDNF, GDNF, GFAP, GFRa-1, GFR-альфа1, GFR-альфа2, GFR-альфа3, GTR, глюкагон, Glut 4, гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), GM-CSF, gp130, gp72, GRO, соматолиберин, гаптен (NP-сар или NIP-сар), HB-EGF, HCC, гликопротеин gB оболочки HCMV, гликопротеин gH оболочки HCMV, HCMV UL, гемопоэтический фактор роста (HGF), Her В gp120, гепараназа, Her2, Her2/neu (ErbB-2), Her3 (ErbB-3), Her4 (ErbB-4), гликопротеин gB вируса простого герпеса (HSV), гликопротеин gD HSV, HGFA, высокомолекулярный меланомаассоциированный антиген (HMW-MAA), HIV gp120, V3-петля gp 120 HIV IIIB, HLA, HLA-DR, HM1.24, HMFG PEM, HRG, Hrk, кардиальный миозин человека, цитомегаловирус человека (HCMV), гормон роста человека (HGH), HVEM, I-309, IAP, ICAM, ICAM-1, ICAM-3, ICE, ICOS, IFNg, Ig, рецептор IgA, IgE, IGF, IGF-связывающие белки, IGF-1R, IGFBP, IGF-I, IGF-II, IL, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-4R, IL-5, IL-5R, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-18R, IL-23, интерферон (INF)-альфа, INF-бета, INF-гамма, ингибин, iNOS, А-цепь инсулина, В-цепь инсулина, инсулиноподобный фактор роста 1, интегрин альфа-2, интегрин альфа-3, интегрин альфа-4, интегрин альфа-4/бета-1, интегрин альфа-4/бета-7, интегрин альфа-5 (альфа-V), интегрин альфа-5/бета-1, интегрин альфа-5/бета-3, интегрин альфа-6, интегрин бета-1, интегрин бета-2, интерферон гамма, IP-10, I-TAC, JE, калликреин 2, калликреин 5, калликреин 6, калликреин 11, калликреин 12, калликреин 14, калликреин 15, калликреин L1, калликреин L2, калликреин L3, калликреин L4, KC, KDR, фактор роста кератиноцитов (KGF), ламинин 5, LAMP, LAP, LAP (TGF-1), латентный TGF-1, bp1 латентного TGF-1, LBP, LDGF, LECT2, Lefty, антиген Lewis-Y, Lewis-Y-родственный антиген, LFA-1, LFA-3, Lfo, LIF, LIGHT, липопротеины, LIX, LKN, Lptn, L-селектин, LT-a, LT-b, LTB4, LTBP-1, легочный сурфактант, лютеинизирующий гормон, рецептор лимфотоксина бета, Mac-1, MAdCAM, MAG, MAP2, MARC, MCAM, MCAM, MCK-2, MCP, M-CSF, MDC, Mer, металлопротеазы, рецептор MGDF, MGMT, MHC (HLA-DR), MIF, MIG, MIP, MIP-1-альфа, MK, MMAC1, MMP, MMP-1, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-2, MMP-24, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MPIF, Mpo, MSK, MSP, муцин (Muc1), MUC18, Мюллерова ингибирующая субстанция, Mug, MuSK, NAIP, NAP, NCAD, N-кадгерин, NCA 90, NCAM, NCAM, неприлизин, нейротрофин-3, -4 или -6, нейрутин, фактор роста нервов (NGF), NGFR, NGF-бета, nNOS, NO, NOS, Npr, NRG-3, NT, NTN, OB, OGG1, OPG, OPN, OSM, OX40L, OX40R, p150, p95, PADPr, паратиреоидный гормон, PARC, PARP, PBR, PBSF, PCAD, P-кадгерин, PCNA, PDGF, PDGF, PDK-1, PECAM, PEM, PF4, PGE, PGF, PGI2, PGJ2, PIN, PLA2, щелочная фосфатаза плаценты (PLAP), P1GF, PLP, PP14, проинсулин, прорелаксин, белок C, PS, PSA, PSCA, простатический специфический мембранный антиген (PSMA), PTEN, PTHr, Ptk, PTN, R51, RANK, RANKL, RANTES, RANTES, А-цепь релаксина, В-цепь релаксина, ренин, респираторный синтициальный вирус (RSV) F, RSV Fgp, Ret, ревматоидные факторы, RLIP76, RPA2, RSK, S100, SCF/KL, SDF-1, SERINE, сывороточный альбумин, sFRP-3, Shh, SIGIRR, SK-1, SLAM, SLPI, SMAC, SMDF, SMOH, SOD, SPARC, Stat, STEAP, STEAP-II, TACE, TACI, TAG-72 (опухлеассоциированный гликопротеин-72), TARC, TCA-3, Т-клеточные рецепторы (например, Т-клеточный рецептор альфа/бета), TdT, TECK, TEM1, TEM5, TEM7, TEM8, TERT, PLAP-подобная щелочная фосфатаза яичек, TfR, TGF, TGF-альфа, TGF-бета, полиспецифический TGF-бета, TGF-бета RI (ALK-5), TGF-бета RII, TGF-бета R11b, TGF-бета RIII, TGF-бета1, TGF-бета2, TGF-бета3, TGF-бета4, TGF-бета5, тромбин, Ck-1 тимуса, тиреотропный гормон, Tie, TIMP, TIQ, тканевой фактор, TMEFF2, Tmpo, TMPRSS2, TNF, TNF-альфа, TNF-альфа бета, TNF-бета-2, TNFc, TNF-RI, TNF-RII, TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2, DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5, KILLER, TRICK-2A, TRICK-B), TNFRSF10C (TRAIL R3 DcR1, LIT, TRID), TNFRSF10D (TRAIL R4 DcR2, TRUND), TNFRSF11A (RANK ODF R, TRANCE R), TNFRSF11B (OPG OCIF, TR1), TNFRSF12 (TWEAK R FN14), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFF R), TNFRSF14 (HVEM ATAR, HveA, LIGHT R, TR2), TNFRSF16 (NGFR p75NTR), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF18 (GITR AITR), TNFRSF19 (TROY TAJ, TRADE), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF1A (TNF RI CD120a, p55-60), TNFRSF1B (TNF RII CD120b, p75-80), TNFRSF26 (TNFRH3), TNFRSF3 (LTbR TNF RIII, TNFC R), TNFRSF4 (OX40 ACT35, TXGP1 R), TNFRSF5 (CD40 p50), TNFRSF6 (Fas Apo-1, APT1, CD95), TNFRSF6B (DcR3 M68, TR6), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF9 (4-1BB CD137, ILA), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF22 (DcTRAIL R2 TNFRH2), TNFRST23 (DcTRAIL R1 TNFRH1), TNFRSF25 (DR3 Apo-3, LARD, TR-3, TRAMP, WSL-1), TNFSF10 (TRAIL Apo-2-лиганд, TL2), TNFSF11 (TRANCE/RANK-лиганд, ODF, OPG-лиганд), TNFSF12 (TWEAK Apo-3-лиганд, DR3-лиганд), TNFSF13 (APRIL TALL2), TNFSF13B (BAFF BLYS, TALL1, THANK, TNFSF20), TNFSF14 (LIGHT HVEM-лиганд, LTg), TNFSF15 (TL1A/VEGI), TNFSF18 (GITR-лиганд, AITR-лиганд, TL6), TNFSF1A (TNF-a конектин, DIF, TNFSF2), TNFSF1B (TNF-b LTa, TNFSF1), TNFSF3 (LTb TNFC, p33), TNFSF4 (OX40-лиганд gp34, TXGP1), TNFSF5 (CD40-лиганд CD154, gp39, HIGM1, IMD3, TRAP), TNFSF6 (Fas-лиганд, Apo-1-лиганд, APT1-лиганд), TNFSF7 (CD27-лиганд CD70), TNFSF8 (CD30-лиганд CD153), TNFSF9 (4-1BB-лиганд, CD137-лиганд), TP-1, t-PA, Тро, TRAIL, TRAIL R, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRANCE, рецептор трансферрина, TRF, Trk, TROP-2, TSG, TSLP, опухолеассоциированный антиген CA 125, опухолеассоциированный Lewis Y-родственный углеводный антиген, TWEAK, TXB2, Ung, uPAR, uPAR-1, урокиназа, VCAM, VCAM-1, VECAD, VE-кадгерин, VE-кадгерин-2, VEGFR-1 (flt-1), VEGF, VEGFR, VEGFR-3 (flt-4), VEGI,

VIM, вирусные антигены, VLA, VLA-1, VLA-4, интегрин VNR, фактор фон Виллебранда, WIF-1, WNT1, WNT2, WNT2B/13, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, XCL1, XCL2, XCR1, XCR1, XEDAR, XIAP, XPD и рецепторы гормонов и факторов роста.

Иллюстративные антигены, на которые можно специфически нацелить иммуноглобулины по настоящему изобретению, включают без ограничения: CD20, CD19, Her2, EGFR, EpCAM, CD3, FcγRIIIa (CD16), FcγRIIIa (CD32a), FcγRIIIb (CD32b), FcγRI (CD64), толл-подобные рецепторы (TLR), такие как TLR4 и TLR9, цитокины, такие как IL-2, IL-5, IL-13, IL-12, IL-23 и TNFα, рецепторы цитокинов, такие как IL-2R, хемокины, рецепторы хемокинов, факторы роста, такие как VEGF и HGF и т.п. Для получения биспецифических антител по настоящему изобретению можно создать антитела к любой комбинации этих антигенов; то есть каждый из этих антигенов можно необязательно и независимо включить в спектр действия биспецифического антитела в соответствии с настоящим изобретением или исключить из него.

Особенно предпочтительными комбинациями для биспецифических антител являются домен, связывающийся с антигеном CD3, и антигенсвязывающий домен, выбранный из домена, который связывает CD19, CD20, CD38 и CD123, последовательности которых показаны на фигурах.

Нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению

Настоящее изобретение дополнительно предусматривает композиции нуклеиновых кислот, кодирующие биспецифические антитела по настоящему изобретению. Как будет понятно специалистам в данной области, композиции нуклеиновых кислот будут зависеть от формата и каркаса гетеродимерного белка. Так, например, если формат требует три аминокислотные последовательности, например, для тройного F-формата (например, первый аминокислотный мономер, содержащий Fc-домен и scFv, второй аминокислотный мономер, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь), то три последовательности нуклеиновых кислот можно включить в один или несколько векторов экспрессии для экспрессии. Аналогичным образом, в некоторых форматах (например, форматах с двойным scFv, таких как раскрытые на фиг. 1) необходимы только две нуклеиновые кислоты; опять же, их можно поместить в один или два вектора экспрессии.

Как известно из уровня техники, нуклеиновые кислоты, кодирующие компоненты по настоящему изобретению, можно включить в векторы экспрессии, известные из уровня техники, и в зависимости от клеток-хозяев, применяемых для получения гетеродимерных антител по настоящему изобретению. Как правило, нуклеиновые кислоты функционально связаны с любым количеством регуляторных элементов (промоторов, точки начала репликации, селективируемых маркеров, сайтов связывания рибосом, индукторов и т.д.). Векторы экспрессии могут быть внехромосомными или интегрирующими векторами.

Затем нуклеиновые кислоты и/или векторы экспрессии по настоящему изобретению трансформируют в любое количество различных типов клеток-хозяев, как хорошо известно из уровня техники, включая клетки млекопитающих, бактерий, дрожжей, насекомых и/или грибов, при этом клетки млекопитающих (например, клетки CHO) находят применение во многих вариантах осуществления.

В некоторых вариантах осуществления каждая из нуклеиновых кислот, кодирующих каждый мономер, и, необязательно, нуклеиновая кислота, кодирующая легкую цепь, применяемую в зависимости от формата, содержится в пределах одного вектора экспрессии, как правило, под контролем разных или одного и того же промотора. В вариантах осуществления, особенно применимых в настоящем изобретении, каждая из этих двух или трех нуклеиновых кислот содержится в отличном векторе экспрессии. Как показано в данном документе и в № 62/025931, включенном в данный документ посредством ссылки, для управления образованием гетеродимера можно применять различные соотношения векторов. То есть, и что удивительно, хотя белки содержат первый мономер:второй мономер:легкие цепи (в случае многих вариантов осуществления в данном документе, где предусматривается содержащее три полипептида гетеродимерное антитело) в соотношении 1:1:2, это не является соотношением, которое дает наилучшие результаты.

Гетеродимерные антитела по настоящему изобретению получают путем культивирования клеток-хозяев, содержащих вектор(векторы) экспрессии, как хорошо известно из уровня техники. После получения выполняют традиционные стадии очистки антител, включая стадию ионообменной хроматографии. Как обсуждается в данном документе, pI двух мономеров, отличающиеся по меньшей мере на 0,5, могут обеспечить возможность разделения с помощью ионообменной хроматографии или изоэлектрического фокусирования или других способов, чувствительных к изоэлектрической точке. То есть включение замен с изменением pI, которые обеспечивают изменение изоэлектрической точки (pI) каждого мономера таким образом, что каждый мономер имеет различную pI, и гетеродимер также имеет отличную pI, тем самым обеспечивает облегчение очистки на основе изоэлектрической точки гетеродимера в "тройном F"-формате (например, с применением анионообменных колонок, катионообменных колонок). Эти замены также помогают в определении и отслеживании любого загрязнения после очистки гомодимеров с двойным scFv-Fc и mAb (например, с применением IEF-гелей, cIEF и аналитических колонок для IEX).

Методы лечения

После получения композиции по настоящему изобретению находят применение в ряде вариантов применения. Регуляция CD20, CD38 и CD123 нарушена при многих злокачественных новообразованиях гемопоэтической системы и в линиях клеток, полученных из различных злокачественных новообразований гемопоэтической системы, соответственно, гетеродимерные антитела по настоящему изобретению находят применение при лечении рака, включая без ограничения все В-клеточные лимфомы и лейкозы, включая без ограничения неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Беркитта (BL), множественную миелому (MM), В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз (B-CLL), В- и Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), Т-клеточную лимфому (TCL), острый миелоидный лейкоз (AML), волосатоклеточный лейкоз (HCL), лимфому Ходжкина (HL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), неходжкинскую лимфому и хронический миелоидный лейкоз (CML).

Соответственно, гетеродимерные композиции по настоящему изобретению находят применение в лечении этих форм рака.

Композиции антител для введения In Vivo

Составы с антителами, применяемыми в соответствии с настоящим изобретением, готовят для хранения путем смешивания антитела с требуемой степенью чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.[1980]) в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы являются нетоксичными для пациентов при используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный и на основе других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); полипептиды с низкой молекулярной массой (менее чем приблизительно 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG).

Состав в данном документе может также содержать более чем одно активное соединение, если это необходимо для конкретного показания, подлежащего лечению, предпочтительно соединений с взаимодополняющими активностями, которые не оказывают неблагоприятного воздействия друг на друга. Например, может быть необходимо предоставить антитела с другими видами специфичности. Альтернативно или дополнительно, композиция может содержать цитотоксическое средство, цитокин, ингибитор роста и/или низкомолекулярный антагонист. Такие молекулы подходящим образом присутствуют в комбинации в количествах, которые являются эффективными для предполагаемой цели.

Активные ингредиенты также можно заключать в микрокапсулы, полученные, например, с помощью методик коацервации или путем межфазной полимеризации, например, гидроксиметилцеллюлозы, или желатиновые микрокапсулы и поли(метилметакрилатные) микрокапсулы, соответственно, в коллоидные системы доставки лекарственных средств (например, липосомы, микросферы альбумина, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсии. Такие методики раскрыты в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Составы, применяемые для введения in vivo, должны быть стерильными или почти стерильными. Это легко осуществить путем фильтрации через мембраны для стерилизующей фильтрации.

Можно получать препараты с замедленным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, причем эти матрицы находятся в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Примеры матриц с замедленным высвобождением включают в себя полиэферы, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат) или поли(виниловый спирт)), полилактиды (патент США № 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата, неразлагаемый этиленвинилацетат, разлагаемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPO™ (инъеклируемые микросферы, состоящие из сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты и ацетата лейпролида), и поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту. В то время как полимеры, такие как этиленвинилацетат и сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты, обеспечивают высвобождение молекул в течение более 100 дней, определенные гидрогели обеспечивают высвобождение белков в течение более короткого периода времени.

Когда инкапсулированные антитела остаются в организме в течение длительного времени, они могут денатурировать или агрегироваться в результате воздействия влаги при 37°C, что приводит к потере биологической активности и возможным изменениям иммуногенности. Можно разработать рациональ-

ные стратегии для стабилизации в зависимости от задействованного механизма. Например, если было обнаружено, что механизм агрегации представляет собой образование межмолекулярных связей S-S посредством тиодисульфидного обмена, стабилизации можно достичь путем модификации сульфгидрильных остатков, лиофилизации из кислотных растворов, контроля содержания влаги, применения соответствующих добавок и разработки специфических композиций на основе полимерных матриц.

Способы введения

Антитела и химиотерапевтические средства по настоящему изобретению вводят субъекту в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение некоторого периода времени, внутримышечным, внутрибрюшинным, интрацереброспинальным, подкожным, внутрисуставным, интрасиновиальным, интратекальным, пероральным, местным или ингаляционным путем. Внутривенное или подкожное введение антитела является предпочтительным.

Способы лечения

В способах по настоящему изобретению терапию применяют для обеспечения положительного терапевтического ответа в отношении заболевания или состояния. Под "положительным терапевтическим ответом" подразумевается ослабление заболевания или состояния и/или ослабление симптомов, связанных с заболеванием или состоянием. Например, положительный терапевтический ответ будет относиться к одному или нескольким из следующих улучшений при заболевании: (1) уменьшение количества неопластических клеток; (2) повышение уровня гибели неопластических клеток; (3) ингибирование выживаемости неопластических клеток; (5) ингибирование (т.е. замедление до некоторой степени, предпочтительно прекращение) роста опухоли; (6) повышение выживаемости пациентов и (7) некоторое облегчение одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием или состоянием.

Положительные терапевтические ответы при любом конкретном заболевании или состоянии можно определить по стандартизованным критериям ответа, специфичным для данного заболевания или состояния. Ответ опухоли можно оценить по изменениям морфологии опухоли (т.е. общая опухолевая нагрузка, размер опухоли и т. п.) с применением скрининговых методик, таких как магнитно-резонансное томографическое (MRI) сканирование, рентгенографическая визуализация, компьютерное томографическое (КТ) сканирование, остеосцинтиграфическая визуализация, эндоскопия и забор материала опухоли на биопсию, включая пункцию костного мозга (ВМА) и подсчет опухолевых клеток в кровотоке.

В дополнение к этим положительным терапевтическим ответам субъект, подвергающийся терапии, может испытывать положительный эффект ослабления симптомов, связанных с заболеванием.

Ослабление заболевания можно охарактеризовать как полный ответ. Под "полным ответом" подразумевается отсутствие клинически выявляемого заболевания с нормализацией любых аномальных результатов ранее проведенных рентгенологических исследований костного мозга и цереброспинальной жидкости (CSF) или аномального моноклонального белка в случае миеломы.

Такой ответ может сохраняться в течение по меньшей мере 4-8 недель или иногда 6-8 недель после лечения в соответствии со способами по настоящему изобретению. В качестве альтернативы, ослабление заболевания может быть классифицировано как частичный ответ. Под "частичным ответом" подразумевается по меньшей мере приблизительно 50% уменьшение всей измеряемой опухолевой нагрузки (т.е. количества злокачественных клеток, присутствующих у субъекта, или измеряемого объема опухолевых масс или количества аномального моноклонального белка) в отсутствие новых повреждений, которое может сохраняться в течение 4-8 недель или 6-8 недель.

Лечение в соответствии с настоящим изобретением включает "терапевтически эффективное количество" применяемых лекарственных препаратов. "Терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периода времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата.

Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и вес индивидуума, а также способность лекарственных препаратов вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой таковое, при котором терапевтически полезные эффекты преобладают над любыми токсическими или вредными эффектами антитела или части антитела.

"Терапевтически эффективное количество" для лечения опухолей также можно измерить по его способности стабилизировать прогрессирование заболевания. Способность соединения ингибировать рак можно оценить в животной модельной системе, прогнозирующей эффективность в опухолях человека.

В качестве альтернативы это свойство композиции можно оценить путем изучения способности соединения ингибировать рост клеток или индуцировать апоптоз в анализах *in vitro*, известных практикующему специалисту. Терапевтически эффективное количество терапевтического соединения может обеспечивать уменьшение размера опухоли или иным образом облегчать симптомы у субъекта.

Специалист в данной области сможет определить эти количества на основе таких факторов, как размер субъекта, тяжесть симптомов у субъекта и конкретная композиция или выбранный путь введения.

Схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить однократную болюсную дозу, можно вводить не-

сколько разделенных доз в течение некоторого периода или дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать, что определяется требованиями терапевтической ситуации. Парентеральные композиции могут быть составлены в виде стандартной лекарственной формы для облегчения введения и однородности дозирования. Стандартная лекарственная форма, применяемая в данном документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица содержит предварительно определенное количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем.

Спецификация для стандартных лекарственных форм по настоящему изобретению обусловлена и непосредственно зависит от (а) уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, и (б) ограничений в данной области техники, связанных с составлением такого активного соединения, для лечения чувствительности у индивидуумов.

Эффективные дозы и схемы дозирования биспецифических антител, применяемых в настоящем изобретении, зависят от заболевания или состояния, подлежащего лечению, и могут быть определены специалистами в данной области.

Иллюстративный неограничивающий диапазон для терапевтически эффективного количества биспецифического антитела, применяемого в настоящем изобретении, составляет приблизительно 0,1-100 мг/кг, как, например, приблизительно 0,1-50 мг/кг, например, приблизительно 0,1-20 мг/кг, как, например, приблизительно 0,1-10 мг/кг, например, приблизительно 0,5, например, приблизительно 0,3, приблизительно 1 или приблизительно 3 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело вводят в дозе 1 мг/кг или больше, например, доза составляет от 1 до 20 мг/кг, например, доза составляет от 5 до 20 мг/кг, например, доза составляет 8 мг/кг.

Медицинский работник, являющийся специалистом в данной области, может легко определить и назначить эффективное количество требуемой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начинать с доз лекарственного препарата, применяемого в фармацевтической композиции, на уровнях ниже, чем требуется для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозу до достижения желаемого эффекта.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят путем инфузии в еженедельной дозе от 10 до 500 мг/кг, такой как от 200 до 400 мг/кг. Такое введение можно повторять, например, от 1 до 8 раз, например, от 3 до 5 раз. Введение можно осуществлять путем непрерывной инфузии в течение периода времени от 2 до 24 ч, такого как от 2 до 12 ч.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят путем медленной непрерывной инфузии в течение длительного периода времени, такого как более чем 24 ч, если требуется уменьшить проявления побочных эффектов, включая токсичность.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят в еженедельной дозе от 250 мг до 2000 мг, такой как, например, 300 мг, 500 мг, 700 мг, 1000 мг, 1500 мг или 2000 мг, до 8 раз, например от 4 до 6 раз. Введение можно осуществлять путем непрерывной инфузии в течение периода времени от 2 до 24 ч, такого как от 2 до 12 ч. Такую схему можно повторять один или несколько раз по необходимости, например, через 6 месяцев или 12 месяцев. Дозировку можно определять или скорректировать путем измерения количества соединения по настоящему изобретению в крови после введения, например, путем забора биологического образца и применения антиидиотипических антител, которые нацелены на антигенсвязывающий участок биспецифического антитела.

В дополнительном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят один раз в неделю в течение от 2 до 12 недель, например от 3 до 10 недель, например от 4 до 8 недель.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят в качестве поддерживающей терапии, такой как, например, один раз в неделю в течение периода времени от 6 месяцев или больше.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело вводят по схеме, включающей одну инфузию биспецифического антитела с последующей инфузией биспецифического антитела, конъюгированного с радиоактивным изотопом. Схему можно повторить, например, через 7-9 дней.

В качестве неограничивающих примеров лечение согласно настоящему изобретению можно предоставить в виде суточной дозы антитела в количестве приблизительно 0,1-100 мг/кг, таком как 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг в день, по меньшей мере раз в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 дней, или, в качестве альтернативы, по меньшей мере раз в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 недель после начала лечения или в любой их комбинации с применением одиночных или разделенных доз каждые 24, 12, 8, 6, 4 или 2 ч или в любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления молекулу биспецифического антитела применяют в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, например, с химиотерапевтическим средством. Неограничивающие примеры повреждающих ДНК химиотерапевтических средств включают ингибиторы топоизомеразы I (например, иринотекан, топотекан, камптотецин и их аналоги или метаболиты и доксорубин); ингибиторы топоизомеразы II (например, этопозид, тенипозид

и даунорубицин); алкилирующие средства (например, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, тиотепа, ифосфамид, кармустин, ломустин, семустин, стрептозоцин, декарбазин, метотрексат, митомицин С и циклофосфамид); интеркаляторы ДНК (например, цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин); интеркаляторы ДНК и генераторы свободных радикалов, такие как блеомицин; и нуклеозидные миметики (например, 5-фторурацил, капецитабин, гемцитабин, флударабин, цитарабин, меркаптопурин, тиогуанин, пентостатин и гидроксимочевина).

Химиотерапевтические средства, которые нарушают размножение клеток, включают паклитаксел, доцетаксел и родственные аналоги; винкристин, винбластин и родственные аналоги; талидомид, леналидомид и родственные аналоги (например, CC-5013 и CC-4047); ингибиторы тирозиновой протеинкиназы (например, иматиниба мезилат и гефитиниб); ингибиторы протеасомы (например, бортезомиб); ингибиторы NF- κ B, включая ингибиторы киназы I κ B; антитела, которые связываются с белками, сверхэкспрессируемыми при раках, и, следовательно, подавляют размножение клеток (например, трастузумаб, ритуксимаб, цетуксимаб и бевацизумаб); и другие ингибиторы белков или ферментов, которые, как известно, являются стимулированными, сверхэкспрессируемыми или активированными при раках, ингибирование которых приводит к подавлению размножения клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению можно применять до, одновременно с лечением Velcade® (бортезомибом) или после него.

Все цитируемые ссылки явным образом включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В то время как конкретные варианты осуществления настоящего изобретения были описаны выше в иллюстративных целях, специалистам в данной области будет понятно, что многочисленные варианты деталей можно выполнить без отхода от настоящего изобретения, как описано в прилагаемой формуле изобретения.

Примеры

Ниже приводятся примеры для иллюстрации настоящего изобретения. Эти примеры не предназначены для ограничения настоящего изобретения каким-либо конкретным применением или методикой применения. Для всех положений в константных областях, обсуждаемых в настоящем изобретении, нумерация соответствует EU-индексу по Kabat (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е изд., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Бетесда, полностью включена посредством ссылки). Специалистам в области антител будет понятно, что это соглашение включает непоследовательную нумерацию в определенных областях последовательности иммуноглобулина, что позволяет стандартизовать ссылку на консервативные положения в семействах иммуноглобулинов. Соответственно, положения для любого данного иммуноглобулина, определенные по EU-индексу, не обязательно будут соответствовать его последовательной последовательности.

Общие и конкретные научные методики изложены в публикациях заявок на патент США 2015/0307629, 2014/0288275 и WO 2014/145806, которые явным образом включены посредством ссылки во всей своей полноте и, в частности, для методик, изложенных в них.

Пример 1. Альтернативные форматы.

Получение биспецифических антител.

Схематические изображения биспецифических антител к CD38 $\times$ CD3 показаны на фиг. 1. Аминокислотные последовательности для биспецифических антител к CD38 $\times$ CD3 альтернативного формата перечислены на фиг. 39-43. ДНК, кодирующую три цепи, необходимые для экспрессии биспецифического антитела, получали с помощью синтеза генов (Blue Heron Biotechnology, Ботелл, Вашингтон) и субклонировали с применением стандартных методов молекулярной биологии в вектор экспрессии pTT5. Замены вводили с применением либо сайт-направленного мутагенеза (QuikChange, Stratagene, Сидар Крик, Техас), либо дополнительного синтеза генов и субклонирования. ДНК трансфицировали в клетки HEK293E для экспрессии и полученные белки очищали из супернатанта с применением аффинной хроматографии с использованием белка A (GE Healthcare) и катионообменной хроматографии. Выходы после аффинной очистки с использованием белка A представлены на фиг. 35. Очистку с помощью катионообменной хроматографии проводили с применением колонки HiTrap SP HP (GE Healthcare) с буфером для промывки/уравновешивания 50 mM MES, pH 6,0 и буфером для элюирования 50 mM MES, pH 6,0 + 1 M NaCl с линейным градиентом (см. фиг. 36 для хроматограмм).

Перенаправленная Т-клеточная цитотоксичность.

Характеристики биспецифических антител к CD38 $\times$ CD3 определяли *in vitro* в отношении перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности (RTCC) клеточной линии CD38⁺ RPMI8266 миеломы. 10 тысяч клеток RPMI8266 инкубировали в течение 24 ч с 500 тысячами PBMC человека. RTCC измеряли с помощью флуоресценции LDH, как указано (см. фиг. 37).

Пример 2. Перенаправленная Т-клеточная цитотоксичность.

Характеристики биспецифических Fab-scFv-Fc к CD38 $\times$ CD3 определяли *in vitro* в отношении перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности (RTCC) клеточной линии CD38⁺ RPMI8266 миеломы. 40 тысяч клеток RPMI8266 инкубировали в течение 96 ч с 400 тысячами PBMC человека. RTCC измеряли с

помощью проточной цитометрии, как указано (см. фиг. 44). Характеристики экспрессии CD69, Ki-67 и PI-9 в CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетках также определяли с помощью проточной цитометрии, как показано на фиг. 45.

Мышиная модель противоопухолевой активности.

Четырем группам по пять мышей NOD scid gamma (NSG) в каждой прививали 5×10^6 опухолевых клеток RPMI8226TrS (множественная миелома, экспрессирующая люциферазу) путем внутривенной инъекции в хвостовую вену в день -23. В день 0 мышам внутрибрюшинно прививали 10×10^6 РВМС человека. После прививания РВМС в день 0 тестируемые препараты вводили еженедельно (дни 0, 7) с помощью внутрибрюшинной инъекции в дозах, указанных на фиг. 4. Дизайн исследования дополнительно приведен на фиг. 46. За ростом опухоли наблюдали с помощью измерения общего потока на мышь с применением системы визуализации *in vivo* (IVIS®). Как XmAb13551, так и XmAb15426 продемонстрировали значительные противоопухолевые эффекты (см. фиг. 47 и 48).

Исследования на яванских макаках.

Яванским макакам вводили однократную дозу биспецифических антител к CD38 × CD3. Также включали биспецифическое контрольное антитело к RSV × CD3. Уровни доз составляли: 20 мкг/кг XmAb13551 (n=2), 0,5 мг/кг XmAb15426 (n=3), 3 мг/кг XmAb14702 (n=3) или 3 мг/кг XmAb13245 (контрольное антитело к RSV × CD3, n=3) (в 3 независимых исследованиях). Биспецифические антитела к CD38 × CD3 обеспечивали быстрое истощение CD38⁺ клеток в периферической крови (см. фигуру 49). Биспецифические антитела к CD38 × CD3 приводили к активации Т-клеток, измеренной по экспрессии CD69 (см. фигуру 50). Также измеряли уровни IL-6 в сыворотке (см. фигуру 51). Необходимо отметить, что по сравнению с XmAb13551 XmAb15426 характеризовалось увеличенной продолжительностью истощения CD38⁺ клеток и более низкими уровнями активации Т-клеток и продукции IL-6.

XmAb15426 и XmAb14702 тестировали при однократных дозах 0,5 мг/кг и 3 мг/кг соответственно. Оба антитела хорошо переносились при этих более высоких дозах, что согласуется с умеренными уровнями IL6, наблюдаемыми в сыворотке обработанных обезьян. Более того, XmAb15426 со средней аффинностью к CD3 обеспечивало более эффективное истощение CD38⁺ клеток в дозе 0,5 мг/кг по сравнению с исходным высокоаффинным XmAb13551 в дозе 2, 5 или 20 мкг/кг. Истощение при применении XmAb15426 было более устойчивым по сравнению с XmAb13551 в самой высокой дозе в предыдущем исследовании (7 по сравнению с 2 днями соответственно). Примечательно, что, хотя истощение клеток-мишеней было большим в случае XmAb15426, активация Т-клеток (индукция CD69, CD25 и PD1) у обезьян, обработанных XmAb15426, была значительно ниже даже в дозе, в 25 раз более высокой, чем в группе с 20 мкг/кг XmAb13551. XmAb14702 с очень низкой аффинностью к CD3 характеризовалось незначительным эффектом в отношении CD38⁺ клеток и активации Т-клеток.

Эти результаты демонстрируют, что модуляция активации Т-клеток за счет ослабления аффинности к CD3 является перспективным способом увеличения терапевтического диапазона для биспецифических антител, связывающих Т-клетки. Эта стратегия имеет потенциал для расширения набора антигенов, поддающихся целенаправленно воздействующей Т-клеточной иммунотерапии, путем улучшения переносимости и обеспечения возможности более высокого дозирования для преодоления антиген-зависимого клиренса с такими мишенями, как CD38. Мы показали, что при снижении аффинности к CD3 XmAb15426 эффективно истощает CD38⁺ клетки, минимизируя эффекты CRS, предполагаемые при сопоставимых дозах его высокоаффинного аналога XmAb13551.

Пример 3. Разработка CDR для CD123.

Отправной точкой в разработке CDR для гуманизированного антитела CD123 Fab человека была варибельная область легкой цепи антитела мыши 7G3, называемая в данном документе "7G3 H0L0", от ATCC HB-12009. Однако исходная гуманизация (H1_L1; последовательность показана на фиг. 136) приводила к значительной потере аффинности (5-10-кратное снижение аффинности, как показано на фиг. 156B и C). Такая потеря аффинности происходила главным образом из-за гуманизации тяжелой цепи, как показано для конструкции H1_L0 (например, первая гуманизированная тяжелая цепь с легкой цепью мыши), при этом конструкция H1_L1 показала полную 10-кратную потерю аффинности. Это согласовалось с 10-кратной потерей активности RTCC (перенаправленная Т-клеточная цитотоксичность), как показано на фиг. 156D, при тестировании по сравнению с клетками KGla, которые экспрессировали CD123.

Соответственно проводили два раунда оптимизации аффинности/стабилизации. Первый раунд ("библиотека 1", как показано на фиг. 157) заключался в получении 108 вариантов, в том числе LDA, целенаправленные и реверсивные замены, которые затем подвергали скринингу на аффинность в формате Fab (гуманизированный варибельный домен тяжелой цепи, слитый с CH1 человека от IgG1) на чипе CD123, при этом варианты с нейтральной и более высокой аффинностью подвергали скринингу на стабильность на DSF.

Как показано на фиг. 158, Tm первоначального варианта H1L1 повышалась по сравнению с исходным H0L0, причем результаты дополнительных вариантов в исходном H1L1 также показаны на фиг. 158.

Варианты раунда 1 затем выстраивали в формат "открывалки", как дополнительно описано в дан-

ном документе, с применением scFv к CD3 и разработанного Fab, и затем тестировали в анализе связывания KG-1a, а также анализе RTCC, как показано на фиг. 159. Хотя первый раунд оптимизации улучшал аффинность и эффективность вариантов, требовалась дополнительная оптимизация.

Второй раунд, "раунд 2", показанный на фиг. 160, приводил к возврату аффинности связывания до уровней H0L0 мыши, а также возврату активности RTCC. Лучший вариант, XENP14045, обладал улучшенной аффинностью по сравнению с первой последовательностью гуманизации (H1L1; показал +21-кратное улучшение по сравнению с H1L1), а также двукратное повышение активности по сравнению с исходным антителом мыши (7G3; H0L0). Следует отметить, что XENP13967 является эквивалентом XENP14045 на стороне CD123; 13967 имеет разный scFv CD3, как показано в последовательности.

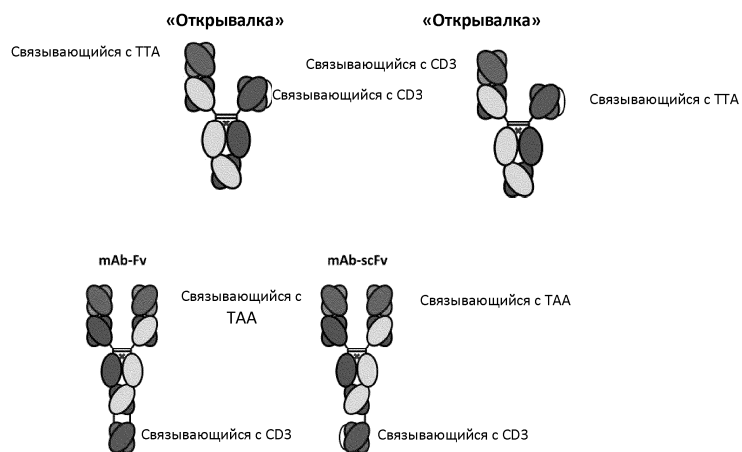
Оптимизация в раунде 2 также приводила к увеличению стабильности, что измеряли посредством Tm. На фиг. 161 показаны результаты анализа Tm с улучшением +5C XENP13967 (и соответственно XENP14045) по сравнению с исходным химерным антителом (например, вариabельными последовательностями тяжелой и легкой цепи мыши) и +4C по сравнению с исходным вариантом H1L1. 13967/14045 имело 11 замен по сравнению с исходной последовательностью H1L1). Кроме того, в ходе второго раунда потенциальный сайт дезаминирования (-NS-мотив) был удален из легкой цепи CDR1.

Пример 4. Разработка CDR для CD20.

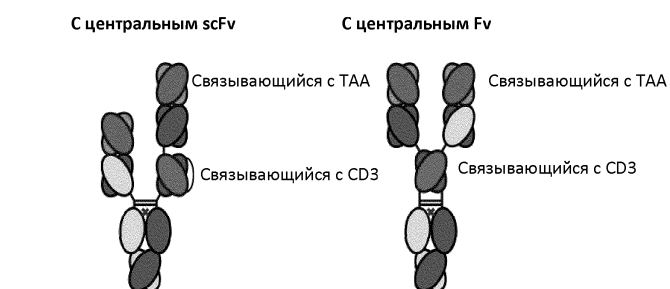
Два Fab антитела к CD20 изучали с точки зрения биспецифического формата CD20 × CD3 в отношении аффинности и эффективности связывания. Как XENP13677, так и XENP13676 основаны на ритуксимабе. Вариант 13677 демонстрировал значительно повышенную активность относительно варианта 13676, аффинность CD20 которого была приблизительно равной аффинности исходного антитела ритуксимаба. Оба биспецифических антитела вводили дозами подверженному исследованию яванскому макаку, чтобы сравнить их свойства *in vivo*. Однако, поскольку вариант 13677 обладал более высокой активностью, его вводили в 10 раз более низкой дозе, которая составляла 0,03 мг/кг, по сравнению с дозой менее активного 13676, которая составляла 0,3 мг/кг. При таких дозах оба антитела значительно истощали В-клетки обезьяны. Однако, как ни удивительно, значительно более активный 13677 в действительности показал более быстрое восстановление В-клеток при его более низкой дозе. С другой стороны, оба антитела обуславливали высвобождение приблизительно одинакового количества IL6. В заключение необходимо отметить, что вариант 13676 с более низкой аффинностью неожиданно продемонстрировал более подходящий терапевтический профиль, вызывая тем самым более продолжительное истощение В-клеток при поддержании аналогичных уровней IL6.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

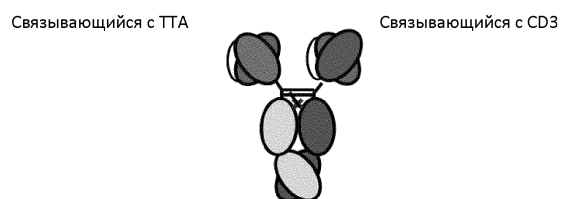
1. Анти-CD123 × анти-CD3 гетеродимерное антитело, содержащее тяжелую цепь 1 (анти-CD123 Fab-Fc) с SEQ ID NO: 468; тяжелую цепь 2 (анти-CD3 scFv-Fc) с SEQ ID NO: 469; и легкую цепь (анти-CD123) с SEQ ID NO: 470.
2. Гетеродимерное антитело по п.1, состоящее из тяжелой цепи 1 (анти-CD123 Fab-Fc) с SEQ ID NO: 468; тяжелой цепи 2 (анти-CD3 scFv-Fc) с SEQ ID NO: 469; и легкой цепи (анти-CD123) с SEQ ID NO: 470.
3. Нуклеиновая кислота, кодирующая гетеродимерное антитело по п.1 или 2.
4. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую гетеродимерное антитело по п.1 или 2.
5. Клетка-хозяин для получения гетеродимерного антитела по п.1 или 2, содержащая нуклеиновую кислоту по п.3.
6. Клетка-хозяин для получения гетеродимерного антитела по п.1 или 2, содержащая вектор экспрессии по п.4.
7. Способ получения гетеродимерного антитела по п.1 или 2, включающий культивирование клетки-хозяина по п.5 или 6 в условиях, при которых экспрессируется антитело, и выделение антитела.
8. Применение гетеродимерного антитела по п.1 или 2 для лечения злокачественного новообразования, связанного с CD123-позитивными клетками.
9. Применение гетеродимерного антитела по п.8, где злокачественным новообразованием является гемопоэтическое злокачественное новообразование.
10. Применение гетеродимерное антитело по п.9, где гемопоэтическое злокачественное новообразование представляет собой В-клеточную лимфому или лейкоз.
11. Применение гетеродимерного антитела по п.10, где В-клеточная лимфома или лейкоз выбраны из группы, состоящей из неходжкинской лимфомы (NHL), лимфомы Беркитта (BL), множественной миеломы (MM), В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза (B-CLL), В- и Т-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), Т-клеточной лимфомы (TCL), острого миелоидного лейкоза (AML), волосатоклеточного лейкоза (HCL), лимфомы Ходжкина (HL), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), неходжкинской лимфомы и хронического миелоидного лейкоза (CML).



Фиг. 1А

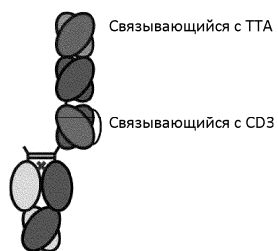


С двойным scFv

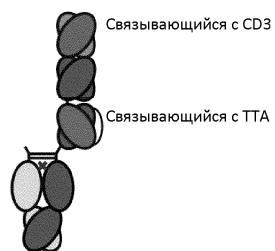


Фиг. 1В

С односторонним центральным scFv



С односторонним центральным scFv



Фиг. 1С

С высокой аффинностью к CD3 anti-CD3_H1.30_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	1
vhCDR1	TYAMN	2
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	3
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	4
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QAVVTQEPSTLSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFEGGGTKLTVL	5
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	6
vlCDR2	GTNKRAP	7
vlCDR3	ALWYSNHWV	8
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHW VFEGGGTKLTVL	9

Фиг. 2

С аффинностью к CD3 от высокой до средней №1: anti-CD3_H1.32_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	10
vhCDR1	TYAMN	11
vhCDR2	RIRSKANNYATYYADSVKG	12
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	13
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QAVVTQEPSTLSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFEGGGTKLTVL	14
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	15
vlCDR2	GTNKRAP	16
vlCDR3	ALWYSNHWV	17
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHW VFEGGGTKLTVL	18

Фиг. 3

С аффинностью к CD3 от высокой до средней №2: anti-CD3_H1.89_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSS	19
vhCDR1	TYAMN	20
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	21
vhCDR3	HGNFGDEYVSWFAY	22
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QAVVTQEPSTLSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFEGGGTKLTVL	23
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	24
vlCDR2	GTNKRAP	25
vlCDR3	ALWYSNHWV	26
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHW VFEGGGTKLTVL	27

Фиг. 4

С аффинностью к CD3 от высокой до средней №3: anti-CD3_H1.90_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSS	28
vhCDR1	TYAMN	29
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	30
vhCDR3	HGNFGDPYVSWFAY	31
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	32
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	33
vlCDR2	GTNKRAP	34
vlCDR3	ALWYSNHWV	35
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHW VFGGGTKLTVL	36

Фиг. 5

Со средней аффинностью к CD3: anti-CD3_H1.33_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSS	37
vhCDR1	TYAMN	38
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	39
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFDY	40
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	41
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	42
vlCDR2	GTNKRAP	43
vlCDR3	ALWYSNHWV	44
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHW VFGGGTKLTVL	45

Фиг. 6

С низкой аффинностью к CD3: anti-CD3_H1.31_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS	46
vhCDR1	TYAMS	47
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	48
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	49
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	50
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	51
vlCDR2	GTNKRAP	52
vlCDR3	ALWYSNHWV	53
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHW VFGGGTKLTVL	54

Фиг. 7

С высокой аффинностью к CD38: OKT10_H1.77_L1.24

Объект	Последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY YSWMN WVRQAPGKGLEWVSEIN PQSSTIN YATSVKGRTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARY GNWFPY WGQGTLLTVSS	55
vhCDR1	YSWMN	56
vhCDR2	EINPQSSTIN YATSVKG	57
vhCDR3	YGNWFPY	58
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALIY SASYRYS GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFA TYFC QQYDSYPLT FGGGTKLEIK	59
viCDR1	RASQNVDTWVA	60
viCDR2	SASYRYS	61
viCDR3	QQYDSYPLT	62
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY YSWMN WVRQAPGKGLEWVSEIN PQSSTIN YATSVKGRTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARY GNWFPY WGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ NVDTWVAWYQKPGQSPKALIY SASYRYS GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQYDSYPLT FGGGTKLEIK	63

Фиг. 8

Со средней аффинностью к CD38: OKT10_H1L1.24

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS RSWMN WVRQAPGKGLEWVSEIN PD SSTIN YATSVKGRTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARY GNWFPY WGQGTLLTVSS	64
vhCDR1	RSWMN	65
vhCDR2	EINPDSSSTIN YATSVKG	66
vhCDR3	YGNWFPY	67
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALIY SASYRYS GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFA TYFC QQYDSYPLT FGGGTKLEIK	68
viCDR1	RASQNVDTWVA	69
viCDR2	SASYRYS	70
viCDR3	QQYDSYPLT	71
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS RSWMN WVRQAPGKGLEWVSEIN PD SSTIN YATSVKGRTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARY GNWFPY WGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ NVDTWVAWYQKPGQSPKALIY SASYRYS GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQYDSYPLT FGGGTKLEIK	72

Фиг. 9

С низкой аффинностью к CD38: OKT10_H1L1

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY YSWMN WVRQAPGKGLEWVSEIN PQSSTIN YATSVKGRTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARY GNWFPY WGQGTLLTVSS	55
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALIY SASYRYS GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFA TYFC QQYDSYPLT FGGGTKLEIK	59
scFv (в т. ч. заряженный линкер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY YSWMN WVRQAPGKGLEWVSEIN PQSSTIN YATSVKGRTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARY GNWFPY WGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ NVDTWVAWYQKPGQSPKALIY SASYRYS GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC QQYDSYPLT FGGGTKLEIK	63

Фиг. 10

XENP15331

XENP13551 HC-Fab SEQ ID NO:82

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWG
QGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

XENP13551 HC-scFv SEQ ID NO:83

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS
YVSWFAYWGQGTTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL
GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP13551 LC SEQ ID NO:84

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALIYSASYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTKEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 11

XENP13243 HC-Fab SEQ ID NO:85

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWG
GQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC
CDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSPGK

XENP13243 HC-scFv SEQ ID NO:86

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS
YVSWFAYWGQGTTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL
GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP13243 LC SEQ ID NO:87

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALIYSASYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTKEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 12

XENP14702, Тяжелая цепь 1, Fab-scFv-Fc к CD38xCD3 (Fab-Fc к CD38 (OKT10 H1.77)) SEQ ID:88

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWG
QGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

XENP14702, Тяжелая цепь 2, Fab-scFv-Fc к CD38xCD3 (scFv-Fc к CD3 (α CD3 H1.31 L1.47)) SEQ ID NO:89

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
VSWFAYWGQGTTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
PPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP14702, легкая цепь, Fab-scFv-Fc к CD38xCD3 (к CD38 (OKT10 L1.24)) SEQ ID NO:90

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALIYSASYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTKEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 13

XENP15426, Fab-scFv-Fc к CD38 (ОКТ10_H1.77_L1.24, с высокой аффинностью к CD38) х CD3 (H1.33_L1.47, со средней аффинностью к CD3)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:91)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWRQAPGKGLEWVSEINPQSSTINYATSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKA
LPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:92)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD
SYVSWFWDYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGS
LLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAIWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:93)

DIVMTQSPSSLSASVGRDVTITCRASQNVDTWVAWYQQKPGQSPKALISASYRSGVDPDRFTGSGSGDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTKEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 14

XENP14701, Тяжелая цепь 1, Fab-scFv-Fc к CD38 х CD3 (Fab-Fc к CD38 (ОКТ10_H1)) (SEQ ID NO:94)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDFSRSWMNWRQAPGKGLEWVSEINPDSSSTINYATSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKKVEPK
CDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

XENP14701, Тяжелая цепь 2, Fab-scFv-Fc к CD38 х CD3 (scFv-Fc к CD3 (αCD3_H1.31_L1.47)) (SEQ ID NO:95)

FVQIVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWWRQAPGKGLFWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
VSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP14701, Легкая цепь, Fab-scFv-Fc к CD38 х CD3 (к CD38 (ОКТ10_L1)) (SEQ ID NO:96)

DIVMTQSPSSLSASVGRDVTITCRASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALISASYRSGVDPDRFTGSGSGDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTKEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 15

XENP14703, Тяжелая цепь 1, Fab-scFv-Fc к CD38 х CD3 (Fab-Fc к CD38 (ОКТ10_H1)) (SEQ ID NO:97)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDFSRSWMNWRQAPGKGLEWVSEINPDSSSTINYATSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

XENP14703, Тяжелая цепь 2, Fab-scFv-Fc к CD38 х CD3 (scFv-Fc к CD3 (αCD3_H1.31_L1.47)) (SEQ ID NO:98)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
VSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP14703, Легкая цепь, Fab-scFv-Fc к CD38 х CD3 (к CD38 (ОКТ10_L1.53)) (SEQ ID NO:99)

DIVMTQSPSSLSASVGRDVTITCRASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALISASYRSGVDPDRFTGSGSGDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTKEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 16

XENP13243, Fab-scFv-Fc к CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:100)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD**FSRW**MN**WVRQ**APGKGLEWVSE**INPD**SS**TINYATSVKGR**FTISRDN**SKNTLYLQ**MNSLRAEDTAVYYC**ARYGNW**FPYWGQGT**LVTVSS**/ASTKGPSVF**PLAPSSK**STSGGTAALGCLVKDYF**PEPVT**SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV**TVPS**SLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP**PCPAPPVAGPSV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN**AKTKPRE**EYNSTYRVVSV**LT**VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY**TLPPS**REEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD**GQ**PENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW**EQG**DFVFC**SCVM**HEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:101)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**STYAM**N**WVRQ**APGKGLEWVGR**IRSK**YNNYATY**YADSVKGR**FTISRDD**SKNTLYLQ**MNSLRAEDTAVYYC**VRHGN**FGDSY**VS**W**FAY**WGQGT**LVTVSS**/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEP**SLTVSP**GGT**VT**LT**CGS**ST**GAVIT**SNYAN**WV**QKPGKSPRGLIG**GTN**K**RAP**GV**PAR**FSGLLGGKAAL**TISGAQ**PEDEADYY**CALWYS**N**H**WVFGGGTK**LT**VL/EPKSSDKTHTCP**PCPAPPVAGPSV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN**AKTKPRE**EYNSTYRVVSV**LT**VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY**TLPPS**REQMTKNQV**KL**TLCKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ**QGN**VF**SCVM**HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:102)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTIT**CRASQ**NVD**T**N**VA**WYQKPGQSPKALI**Y**SA**SYR**YSGVPDRFTGSGSGTDFTLT**ISS**LQPEDFATY**FCQ**QYDS**Y**PLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV**VCL**LN**N**FYP**REAKVQ**WKVDNALQSGNSQESVTEQDSK**ST**YLS**ST**LTLSKADY**E**KKHYACEV**TH**QGLSSP**V**TK**S**FN**R**GEC

Фиг. 17

XENP18967, mAb-scFv к CD38 (OKT10_H1.77_L1.24) x CD3 (SP34_H1.32_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:103)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSY**WMN**WVRQ**APGKGLEWVSE**INPQ**SS**TINYATSVKGR**FTISRDN**SKNTLYLQ**MNSLRAEDTAVYYC**ARYGNW**FPYWGQGT**LVTVSS**/ASTKGPSVF**PLAPSSK**STSGGTAALGCLVKDYF**PEPVT**SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV**TVPS**SLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP**PCPAPPVAGPSV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN**AKTKPRE**EYNSTYRVVSV**LT**VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY**TLPPS**REQMTKNQV**KL**TLCKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW**EQG**DFVFC**SCVM**HEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:104)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**STYAM**N**WVRQ**APGKGLEWVGR**IRSK**ANNYATY**YADSVKGR**FTISRDD**SKNTLYLQ**MNSLRAEDTAVYYC**VRHGN**FGDSY**VS**W**FAY**WGQGT**LVTVSS**/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEP**SLTVSP**GGT**VT**LT**CGS**ST**GAVIT**SNYAN**WV**QKPGKSPRGLIG**GTN**K**RAP**GV**PAR**FSGLLLGGKAAL**TISGAQ**PEDEADYY**CALWYS**N**H**WVFGGGTK**LT**VL/EPKSSDKTHTCP**PCPAPPVAGPSV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN**AKTKPRE**EYNSTYRVVSV**LT**VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY**TLPPS**REQMTKNQV**KL**TLCKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ**QGN**VF**SCVM**HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:105)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTIT**CRASQ**NVD**T**W**VA**WYQKPGQSPKALI**Y**SA**SYR**YSGVPDRFTGSGSGTDFTLT**ISS**LQPEDFATY**FCQ**QYDS**Y**PLTFGGGT**K**LEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV**VCL**LN**N**FYP**REAKVQ**WKVDNALQSGNSQESVTEQDSK**ST**YLS**ST**LTLSKADY**E**KKHYACEV**TH**QGLSSP**V**TK**S**FN**R**GEC

Фиг. 18

XENP18971, mAb-scFv к CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (SP34_H1.32_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:106)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD**FSRW**MN**WVRQ**APGKGLFWVSE**INPD**SS**TINYATSVKGR**FTISRDN**SKNTLYLQ**MNSLRAEDTAVYYC**ARYGNW**FPYWGQGT**LVTVSS**/ASTKGPSVF**PLAPSSK**STSGGTAALGCLVKDYF**PEPVT**SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV**TVPS**SLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP**PCPAPPVAGPSV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN**AKTKPRE**EYNSTYRVVSV**LT**VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY**TLPPS**REEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD**GQ**PENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW**EQG**DFVFC**SCVM**HEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:107)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**STYAM**N**WVRQ**APGKGLEWVGR**IRSK**ANNYATY**YADSVKGR**FTISRDD**SKNTLYLQ**MNSLRAEDTAVYYC**VRHGN**FGDSY**VS**W**FAY**WGQGT**LVTVSS**/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEP**SLTVSP**GGT**VT**LT**CGS**ST**GAVIT**SNYAN**WV**QKPGKSPRGLIG**GTN**K**RAP**GV**PAR**FSGLLLGGKAAL**TISGAQ**PEDEADYY**CALWYS**N**H**WVFGGGTK**LT**VL/EPKSSDKTHTCP**PCPAPPVAGPSV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHN**AKTKPRE**EYNSTYRVVSV**LT**VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY**TLPPS**REQMTKNQV**KL**TLCKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ**QGN**VF**SCVM**HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:108)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTIT**CRASQ**NVD**T**N**VA**WYQKPGQSPKALI**Y**SA**SYR**YSGVPDRFTGSGSGTDFTLT**ISS**LQPEDFATY**FCQ**QYDS**Y**PLTFGGGT**K**LEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV**VCL**LN**N**FYP**REAKVQ**WKVDNALQSGNSQESVTEQDSK**ST**YLS**ST**LTLSKADY**E**KKHYACEV**TH**QGLSSP**V**TK**S**FN**R**GEC

Фиг. 19

XENP18969, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1.24) x CD3 (SP34_H1.33_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:109)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD**FSRSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPD**SSTINYAT**SVKGR**FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFPY**W
 GQGTLTVTS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKKEPK
 SCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
 PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:110)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FTYAMN**WVRQAPGKGLEWV**GRIRSKYNNYATYYADSVKGR**FTISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR**HGNFGDS**
YVSWFDYWGQGLTVTS/ **GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS**/QAVVTQEPSTVSPGGTVTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**GTNKRAP**GVPARFSGS
 LLGGKAALTISGAQPEDEADYY**CALWYSNHWV**FGGGKLTVL/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDG
 EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:111)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVIT**CRASQNVDTWVA**WYQKPGQSPKAL**ISASYRYS**GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 20

XENP18970, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1.24) x CD3 (SP34_H1.31_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:112)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD**FSRSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPD**SSTINYAT**SVKGR**FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFPY**W
 GQGTLTVTS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKKEPK
 SCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
 PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:113)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FTYAM**SWVRQAPGKGLEWV**GRIRSKYNNYATYYADSVKGR**FTISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR**HGNFGDSY**
YVSWFAYWGQGLTVTS/ **GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS**/QAVVTQEPSTVSPGGTVTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**GTNKRAP**GVPARFSGSLL
 GGKAALTISGAQPEDEADYY**CALWYSNHWV**FGGGKLTVL/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
 VHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:114)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVIT**CRASQNVDTWVA**WYQKPGQSPKAL**ISASYRYS**GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 21

XENP18972, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (SP34_H1.33_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:115)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD**FSRSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPD**SSTINYAT**SVKGR**FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFPY**W
 GQGTLTVTS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKKEPK
 SCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
 PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:116)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FTYAMN**WVRQAPGKGLEWV**GRIRSKYNNYATYYADSVKGR**FTISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR**HGNFGDS**
YVSWFDYWGQGLTVTS/ **GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS**/QAVVTQEPSTVSPGGTVTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**GTNKRAP**GVPARFSGS
 LLGGKAALTISGAQPEDEADYY**CALWYSNHWV**FGGGKLTVL/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDG
 EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:117)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVIT**CRASQNVDTNVA**WYQKPGQSPKAL**ISASYRYS**GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 22

XENP18973, mAb-scFv к CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (SP34_H1.31_L1.47)**HC 1 (SEQ ID NO:118)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTGLTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPK
SCDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
LPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:119)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRI~~RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
YSWFAYWGQGTGLTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL
GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV~~KLTVL~~KGFPYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:120)

DIVMTQSPSSLSASVGRDVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKAL~~IYSASYRYS~~GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTGLEIK/RTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 23**XENP15055, Fab-scFv-Fc к CD38 (OKT10_H1L1, с низкой аффинностью к CD38) x CD3 (H1.33_L1.47, со средней аффинностью к CD3)****HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:121)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMN~~WVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDN~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTGLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPK
SCDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:122)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD~~
SYVSWFDYWGQGTGLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGS
LLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV~~KLTVL~~KGFPYPSDIAVEWESNGQPPEN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:123)

DIVMTQSPSSLSASVGRDVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKAL~~IYSASYRYS~~GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTGLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 24**XENP13544, Fab-scFv-Fc к CD38 (OKT10_H1L1, с низкой аффинностью к CD38) x CD3 (H1.79_L1.48)****HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:124)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMN~~WVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDN~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTGLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPK
SCDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:125)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKCLEWVGRI~~RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS~~SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS~~
YVSWFAYWGQGTGLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSL
LGGAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGCGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQV~~KLTVL~~KGFPYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:126)

DIVMTQSPSSLSASVGRDVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKAL~~IYSASYRYS~~GVDPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTGLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 25

XENP13694, Fab-scFv-Fc к CD38 (OKT10_H1.77_L1.24, с высокой аффинностью к CD38) х CD3 (H1.79_L1.48)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:127)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFSYSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTLTVTSSASTKGPVSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPK
SCDKTHTCTPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:128)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFSYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS
YVSWFAYWGGQTLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSL
LGGKAALTISGAQPEADYYCALWYSNHWVFGCGTKLTVLEPKSSDKTHCTPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVCLTVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:129)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNVDTWVAWYQQKPGQSPKALISASRYSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTGLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 26

Эпсилон-цепь поверхностного гликопротеина CD3 Т-клеток >sp|P07766|CD3E

(SEQ ID NO:130)

MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDNGNEEMGGITQTPYKVISGTTVILTCPQYPGSEILWQ

HNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCE

NCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVIYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP

PPVPNPDPYPIRKQQRDLYSGLNQRR

Фиг. 27

Последовательность CD38 человека, "/" обозначает соединение с внеклеточным

доменом (ECD) (SEQ ID NO:131)

MANCEFPSPVSGDKPCCRLSRRACLGLGVLSLVLLVVLAVV/VPRWRQQWSGPGTTKRF

ETVLARCVKYEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCN

KILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDC

SNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMNLGSRKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTL

WVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESISKRNQIFSCKNYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

Домен ECD (SEQ ID NO:132)

VPRWRQQWSGPGTTKRFETVLARCVKYEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPC

NKILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDC

SNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMNLGSRKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTL

WVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESISKRNQIFSCKNYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

Фиг. 28

036156

Мономер 1	Мономер 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

Фиг. 29А

Мономер 1	Мономер 2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

Фиг. 29В

036156

Мономер 1	Мономер 2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

Фиг. 29C

Мономер 1	Мономер 2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C

Фиг. 29D

Мономер 1	Мономер 2
T3665/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

Фиг. 29Е

Вариантная константная область**Замены**

pl_ISO(-) I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447

изостерический вариант А с измененной pl_(-) N208D Q295E N384D Q418E N421D

изостерический вариант В с измененной pl_(-) N208D Q295E Q418E N421D

pl_ISO(+RR) Q196K I199T P217R P228R N276K

pl_ISO(+) Q196K I199T N276K

pl_(+)_isosteric_A E269Q E272Q E283Q E357Q

pl_(+)_isosteric_B E269Q E272Q E283Q

pl_(+)_isosteric_E269Q/E272Q E269Q E272Q

pl_(+)_isosteric_E269Q/E283Q E269Q E283Q

pl_(+)_isosteric_E272Q/E283Q E272Q E283Q

pl_(+)_isosteric_E269Q E269Q

Фиг. 30. pl варианты

Вариант	Вариант(варианты), продолжение
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	S239K/S267K
A327Q	267K/P329K
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

Фиг. 31. Варианты с нарушением

Мономер scFv (+)	Мономер Fab (-)
PI варианты гетеродимера S364K/E357Q	PI-варианты гетеродимеризации L368D/K370S
Необязательно заряженный линкер scFv, включая без ограничения (GKPGS) ₄ (SEQ ID NOS 142 и 158)	Изостерические PI замены N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421 D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267 K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S для FcRn	± 428L/434S для FcRn
scFv для антитела к CD3	Последовательности Fv для антитела к CD38

Мономер scFv	Мономер Fab
PI-варианты гетеродимера S364/E357Q	PI-варианты гетеродимеризации L368D/K370S
Необязательно, заряженный линкер scFv, включая без ограничения (GKPGS) ₄ (SEQ ID NOS 142 и 158)	PI замены I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267 K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S для FcRn (необязательно)	± 428L/434S for FcRn (необязательно)
scFv для антитела к CD3	scFv для антитела к CD38

Фиг. 32

Положительно заряженные линкеры scFv

				SEQ ID
Название	Последовательность	Длина	Заряд	NO:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGSGGGGS	15	0	133
Линкер Whitlow	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	134
брахA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	135
+B	GKGGSGKGSGGKGGGS	15	+3	136
+C	GGKGSGGKGS GGKGS	15	+3	137
+D	GGGKS GGGKS GGGKS	15	+3	138
+E	GKGKSGKGKSGKGKS	15	+6	139
+F	GGGKS GGKGS GKGGS	15	+3	140
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	141
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	142
+I	GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS	20	+8	143

Отрицательно заряженные линкеры scFv

Название	Последовательность	Длина	Заряд	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	20	0	144
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDFD	14	-4	145
-B	GEGGSGEGGSGEGGS	15	-3	146
-C	GGEGSGGEGSGGEGGS	15	-3	147
-D	GGGESGGGESGGGES	15	-3	148
-E	GEGESGEGESGEGES	15	-6	149
-F	GGGESGGEGSGEGGS	15	-3	150
-G	GEGESGEGESGEGESGEGES	20	-8	151

ФИГ. 33А

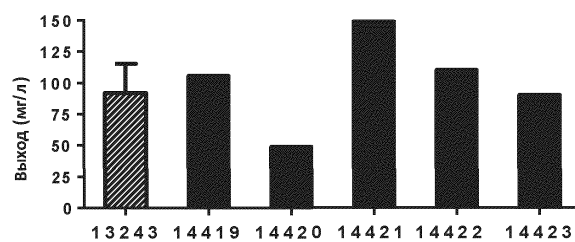
Линкеры scFv

GGGGSGGGSGGGGS	(SEQ ID NO:152)
GGGGSGGGSGGGSGGGGS	(SEQ ID NO:153)
GSTSGSGKPGSGEGSTKG	(SEQ ID NO:154)
PRGASKSGSASQTGSAPGS	(SEQ ID NO:155)
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	(SEQ ID NO:156)
GTSGSSGSGSGGSGSGGGG	(SEQ ID NO:157)
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	(SEQ ID NO:158)

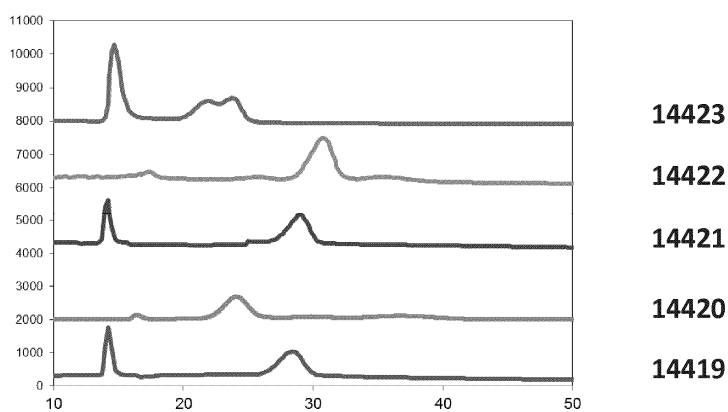
ФИГ. 33В

XENP	Вариант для асимметричного гетеродимера, цепь 1	Вариант для асимметричного гетеродимера, цепь 2	Выход гетеро- димера (%)	СНЗ, Tm (°C)
12757	отсутствует	отсутствует	52,7	83,1
12758	L368D/K370S	S364K	94,4	76,6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90,2	77,2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95,2	77,5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85,6	80,6
12496	L368E/K370S	S364K	91,5	не указано
12511	K370S	S364K	59,9	не указано
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59,5	не указано
12841	K370S	S364K/E357Q	90,4	не указано
12894	L368E/K370S	S364K	41,0	не указано
12895	K370S	S364K	49,3	не указано
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73,9	не указано
12901	K370S	S364K/E357Q	87,9	не указано

Фиг. 34

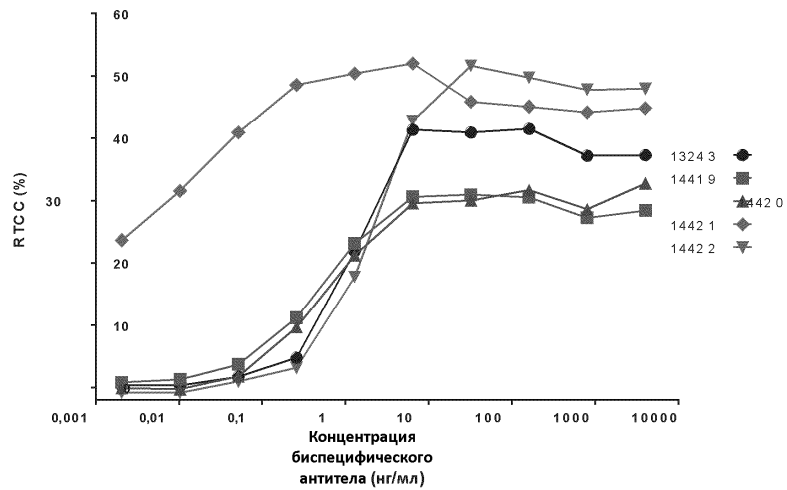


Фиг. 35

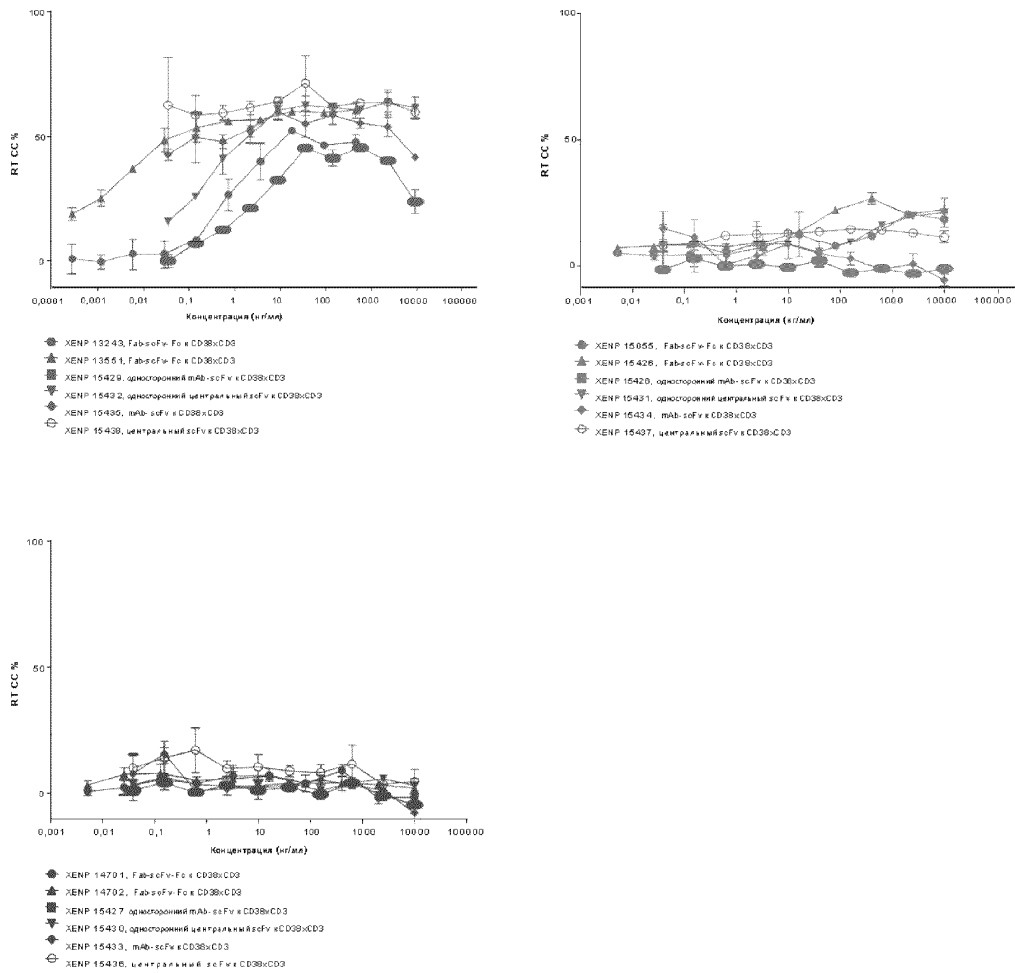


Фиг. 36

Флуоресцентный анализ RTCC с помощью LDH
10 тысяч клеток RPMI8226 и 400 тысяч Т-клеток (24 ч.)



Фиг. 37



Фиг. 38

XENP14419, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:159)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT
 PVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:160)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGS/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMNWVRQAPGKGLEWVSGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQM
 NSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTGSGSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRG LIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYS
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:161)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYFCQQYDSYPLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 39

XENP14420, mAb-Fv κ CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:162)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT
 PVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGS/EVQLVESGG
 GLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMNWVRQAPGKGLEWVSGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQM
 SLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

HC 2 (SEQ ID NO:163)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGS/QAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTGSGSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRG LIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
 DYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:164)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYFCQQYDSYPLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 40

XENP14421, центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) х CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:165)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLVWVSEIN~~PD~~SSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
N GKKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT
PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:166)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLVWVSEIN~~PD~~SSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSGCGGGSGGGGS/ EVQLV
ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYL
QMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGTNKRAPGVPAFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCA
WYSNHWVFGGGTKLTVL/GGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:167)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPRDFTGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYFCQYDSYPLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 41**XENP14422, неполный центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) х CD3 (H1.30_L1.47)**

HC 1 (SEQ ID NO:168)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:169)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLVWVSEIN~~PD~~SSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGS/ EVQLV
ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYL
QMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGTNKRAPGVPAFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCA
WYSNHWVFGGGTKLTVL/GGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:170)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPRDFTGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYFCQYDSYPLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 42

XENP14423, центральный Fv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:171)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FSRSWMN~~WVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGT~~LVTVSS~~/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGS/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVG~~RIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL
 QMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~/GGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
 VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFC~~SV~~MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

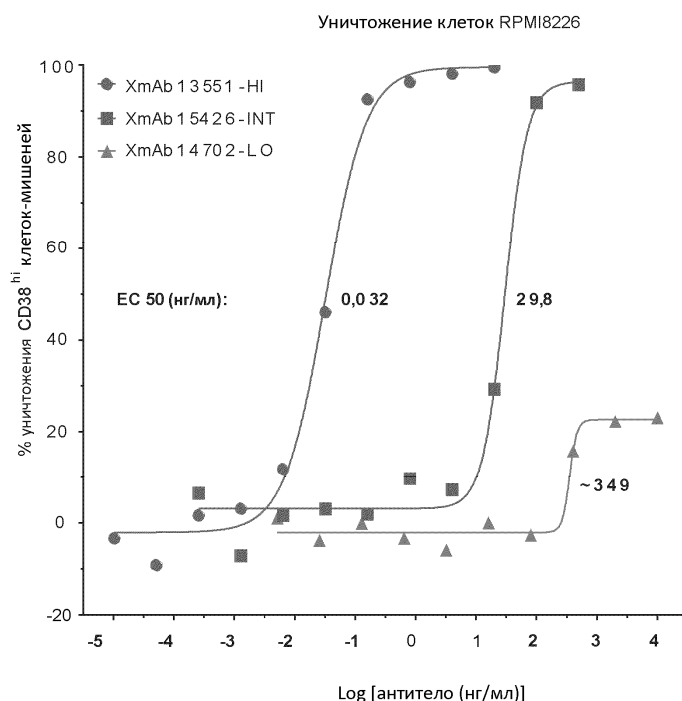
HC 2 (SEQ ID NO:172)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FSRSWMN~~WVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGT~~LVTVSS~~/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGS/QAVV
 TQEPSLTVSPGGTVTLT~~CGSSTGAVTTS~~NYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPE
 DEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GGGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
 QPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
 GNVFSCSV~~MHEALHNHYTQKSLSLSPGK~~

LC (SEQ ID NO:173)

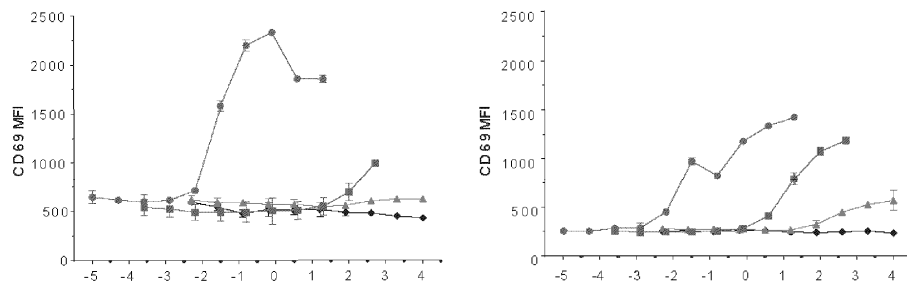
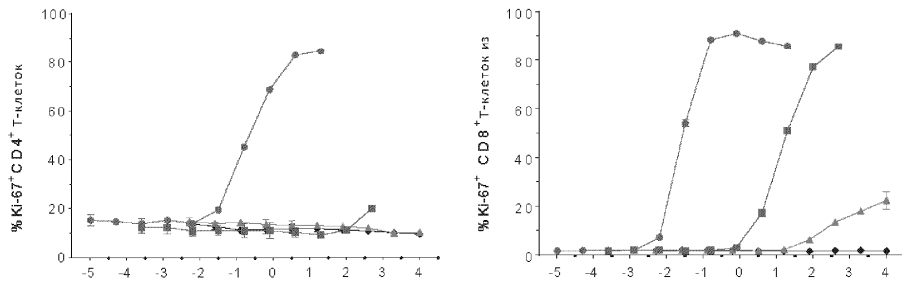
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALISASRYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYFCQQYDSYPLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 43

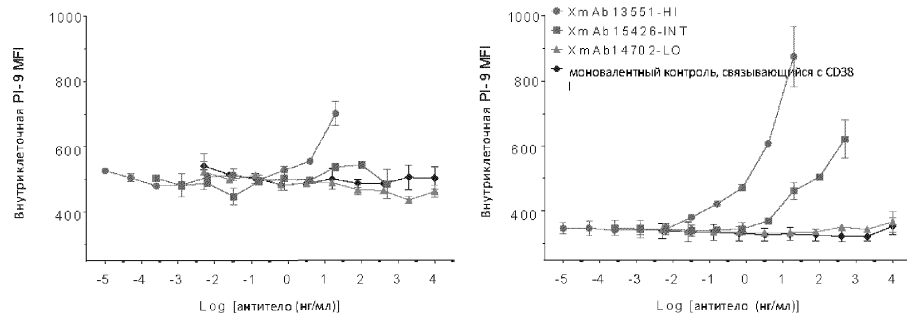


Фиг. 44

Активация (CD69)

Размножение (Ki-67⁺)

Выживаемость (PI-9)



CD4 T-клетки

CD8 T-клетки

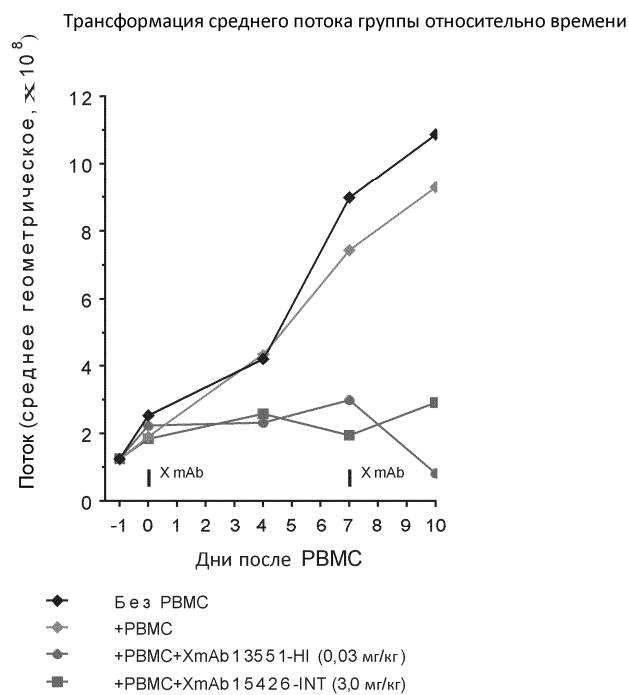
Фиг. 45

Дизайн исследования

- Мышам NSG прививали 5×10^6 клеток RPMI8226TrS (множественная миелома, экспрессирующая люциферазу)
- Мышам внутрибрюшинно прививали 10×10^6 PBMC человека в день 0
- Мышей обрабатывали внутрибрюшинно +/- биспецифическими антителами в день 0 & 7
- Опухолевую нагрузку оценивали с помощью биолуминесцентной визуализации (IVIS Lumina III)

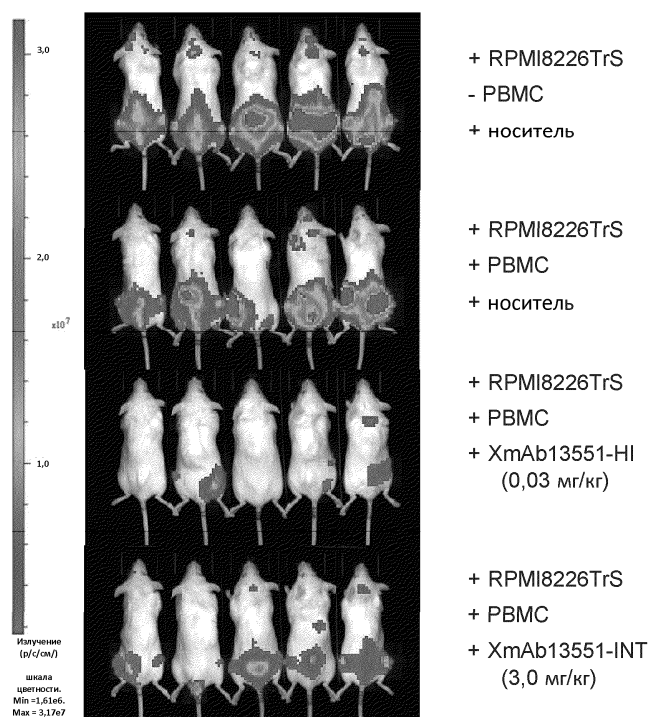


Фиг. 46

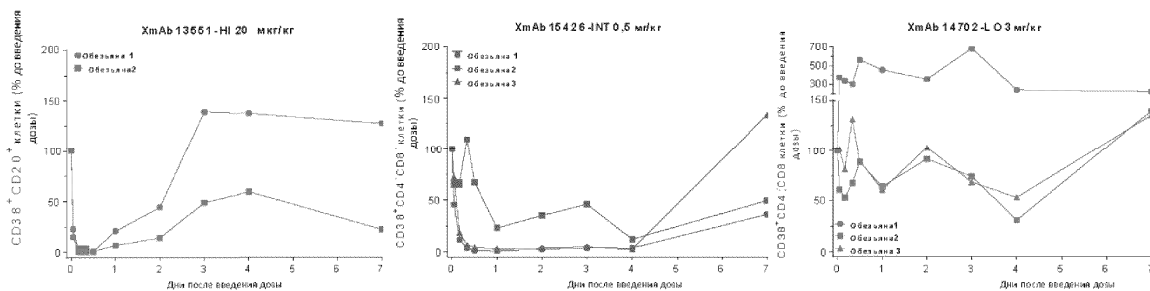


Фиг. 47

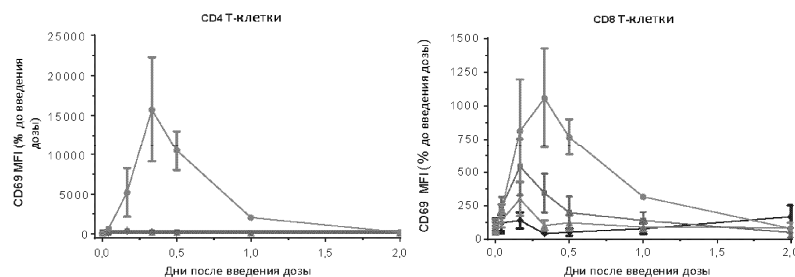
БиOLUMИНИСЦЕНТНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ (день 10)



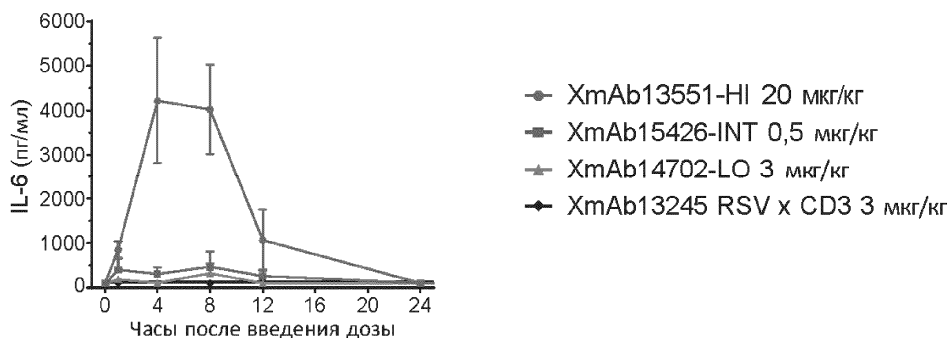
Фиг. 48



Фиг. 49



Фиг. 50



Фиг. 51

XENP15427, неполное mAb-scFv к CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:174)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVHLQDQLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:175)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPSRWVVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRRAEDTAVYYCARYGNWFYWGQGTLTIVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDQLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMS~~WVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM~~
NSLRRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVWFAYWGQGTLTIVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLTVSPGTT
VTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADYYCALWYS
NHWFVGGGTCLTVL

LC (SEQ ID NO:176)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALIYSASYRSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYFCQQYDSYPLTFGGGTGLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 52

XENP15428, неполное mAb-scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.33_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:177)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:178)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLTVSPGGT
VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYCALWYS
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:179)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLISSLQP
EDFATYFCQYQYDSYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 53

XENP15429, неполное mAb-scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:180)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:181)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRSWMNWVRQAPGKGLEWVSEINPDSSTINYATSVKGRFTISRDN SKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM
NSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLTVSPGGT
VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYCALWYS
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:182)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLISSLQP
EDFATYFCQYQYDSYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 54

XENP15430, неполный центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:183)

EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:184)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLEWVSEIN~~PD~~SDSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY~~GNW~~FPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGSGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFST~~YAM~~SWVRQAPGKGLEWVG~~RIR~~SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCV~~RHGN~~FGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP~~SL~~TVSPG
GTVTLT~~CGS~~STGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIG~~GTN~~KRAPGPV~~PAR~~FSGLLGKAALTISGAQPEDEADYYC~~ALW~~
YSNHWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ~~QGN~~VFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:185)

DIVMTQSPSSLSASVGD~~RV~~ITITC~~RASQ~~NVDTNVAWYQKPGQSPKALIY~~SAS~~YRYSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
EDFATYFC~~QY~~QYDSYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 55**XENP15431, неполный центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.33_L1.47)**

HC 1 (SEQ ID NO:186)

EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:187)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLEWVSEIN~~PD~~SDSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY~~GNW~~FPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGSGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFST~~YAM~~SWVRQAPGKGLEWVG~~RIR~~SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCV~~RHGN~~FGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP~~SL~~TVSPG
GTVTLT~~CGS~~STGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIG~~GTN~~KRAPGPV~~PAR~~FSGLLGKAALTISGAQPEDEADYYC~~ALW~~
YSNHWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ~~QGN~~VFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:188)

DIVMTQSPSSLSASVGD~~RV~~ITITC~~RASQ~~NVDTNVAWYQKPGQSPKALIY~~SAS~~YRYSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
EDFATYFC~~QY~~QYDSYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 56**XENP15432, неполный центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)**

HC 1 (SEQ ID NO:189)

EPKSSDKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:190)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD~~FS~~RSWMNWVRQAPGKGLEWVSEIN~~PD~~SDSTINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY~~GNW~~FPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGSGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFST~~YAMN~~WVRQAPGKGLEWVG~~RIR~~SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCV~~RHGN~~FGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP~~SL~~TVSPG
GTVTLT~~CGS~~STGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIG~~GTN~~KRAPGPV~~PAR~~FSGLLGKAALTISGAQPEDEADYYC~~ALW~~
YSNHWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSKTHTCCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ~~QGN~~VFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:191)

DIVMTQSPSSLSASVGD~~RV~~ITITC~~RASQ~~NVDTNVAWYQKPGQSPKALIY~~SAS~~YRYSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
EDFATYFC~~QY~~QYDSYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 57

XENP15433, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:192)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKGR**FTISRDN SKNT
 LY LQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEPY**WGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKHTCTCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWL N
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT P
 PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:193)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKGR**FTISRDN SKNT
 LY LQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEPY**WGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCTCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL N
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGGSEVQLVESG
 GGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSTYAM**SWVRQAPGKGLEWVG**RIRSKYNNYATYYADSVKGR**FTISRDDSKNTLY LQM
 NSLRAEDTAVYYCVR**HGNFGDSYVSWFAY**WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP SLTVSPGGT
 VTLC**GSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRG LIG**GTNKRAPG**VPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADAYYC**ALWYS**
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:194)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQNVDTNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPRFTGSGSGTDFTLTISSLQ P
 EDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 58**XENP15434, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.33_L1.47)**

HC 1 (SEQ ID NO:195)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKGR**FTISRDN SKNT
 LY LQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEPY**WGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKHTCTCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWL N
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT P
 PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:196)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKGR**FTISRDN SKNT
 LY LQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEPY**WGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCTCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL N
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGGSEVQLVESG
 GGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSTYAM**NWVRQAPGKGLEWVG**RIRSKYNNYATYYADSVKGR**FTISRDDSKNTLY LQM
 NSLRAEDTAVYYCVR**HGNFGDSYVSWFDY**WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP SLTVSPGGT
 VTLC**GSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRG LIG**GTNKRAPG**VPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADAYYC**ALWYS**
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:197)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQNVDTNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPRFTGSGSGTDFTLTISSLQ P
 EDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 59**XENP15435, mAb-scFv κ CD38 (OKT10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)**

HC 1 (SEQ ID NO:198)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKGR**FTISRDN SKNT
 LY LQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEPY**WGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKHTCTCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWL N
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT P
 PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:199)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKGR**FTISRDN SKNT
 LY LQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEPY**WGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCTCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL N
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGGGSEVQLVESG
 GGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSTYAM**NWVRQAPGKGLEWVG**RIRSKYNNYATYYADSVKGR**FTISRDDSKNTLY LQM
 NSLRAEDTAVYYCVR**HGNFGDSYVSWFAY**WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP SLTVSPGGT
 VTLC**GSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRG LIG**GTNKRAPG**VPARFSGSLGGKAALTISGAQPEADAYYC**ALWYS**
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:200)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQNVDTNVA**WYQQKPGQSPKALIY**SASYRYS**GVPRFTGSGSGTDFTLTISSLQ P
 EDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 60

XENP15436, центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:201)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDIFS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKG**RFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**G**NW**FPY**WGQGT₁LVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWEESDGQPENNYKTTTP
 PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:202)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDIFS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKG**RFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**G**NW**FPY**WGQGT₁LVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSGGGGGGGGSEVQLVE
 SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSTYAM**SWVRQAPGKGLEWVG**RIRSKYNNYATYYADSVKG**RFTISRDDSKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCVR**H**G**N**F**GDSYVSWFAY**WGQGT₁LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLT**CGSSGTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYC**ALW**
YSNHWVFGGGT₁KLTVLGGGGGGGGGSKTHTCCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PSREQMTKNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:203)

DIVMTQSPSSLSASVGRVTITC**RASQNV**DTN**VAW**YQKPGQSPKALY**SASYRYS**GVDPDRFTGSGSGDTFTLTISLQIP
 EDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 61

XENP15437, центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.33_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:204)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDIFS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKG**RFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**G**NW**FPY**WGQGT₁LVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWEESDGQPENNYKTTTP
 PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:205)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDIFS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKG**RFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**G**NW**FPY**WGQGT₁LVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSGGGGGGGGSEVQLVE
 SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSTYAM**SWVRQAPGKGLEWVG**RIRSKYNNYATYYADSVKG**RFTISRDDSKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCVR**H**G**N**F**GDSYVSWFAY**WGQGT₁LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLT**CGSSGTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYC**ALW**
YSNHWVFGGGT₁KLTVLGGGGGGGGGSKTHTCCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PSREQMTKNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWEESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:206)

DIVMTQSPSSLSASVGRVTITC**RASQNV**DTN**VAW**YQKPGQSPKALY**SASYRYS**GVDPDRFTGSGSGDTFTLTISLQIP
 EDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 62

XENP15438 центральный scFv к CD38 (ОКТ10_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (SEQ ID NO:207)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDIFS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKG**RFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**G**NW**FPY**WGQGT₁LVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCCPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNL
 GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWEESDGQPENNYKTTTP
 PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:208)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDIFS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSSTINYATSVKG**RFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**G**NW**FPY**WGQGT₁LVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSGGGGGGGGSEVQLVE
 SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSTYAM**SWVRQAPGKGLEWVG**RIRSKYNNYATYYADSVKG**RFTISRDDSKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCVR**H**G**N**F**GDSYVSWFAY**WGQGT₁LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLT**CGSSGTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYC**ALW**
YSNHWVFGGGT₁KLTVLGGGGGGGGGSKTHTCCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PSREQMTKNQVKLTCLVKGYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:209)

DIVMTQSPSSLSASVGRVTITC**RASQNV**DTN**VAW**YQKPGQSPKALY**SASYRYS**GVDPDRFTGSGSGDTFTLTISLQIP
 EDFATYFC**QQYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

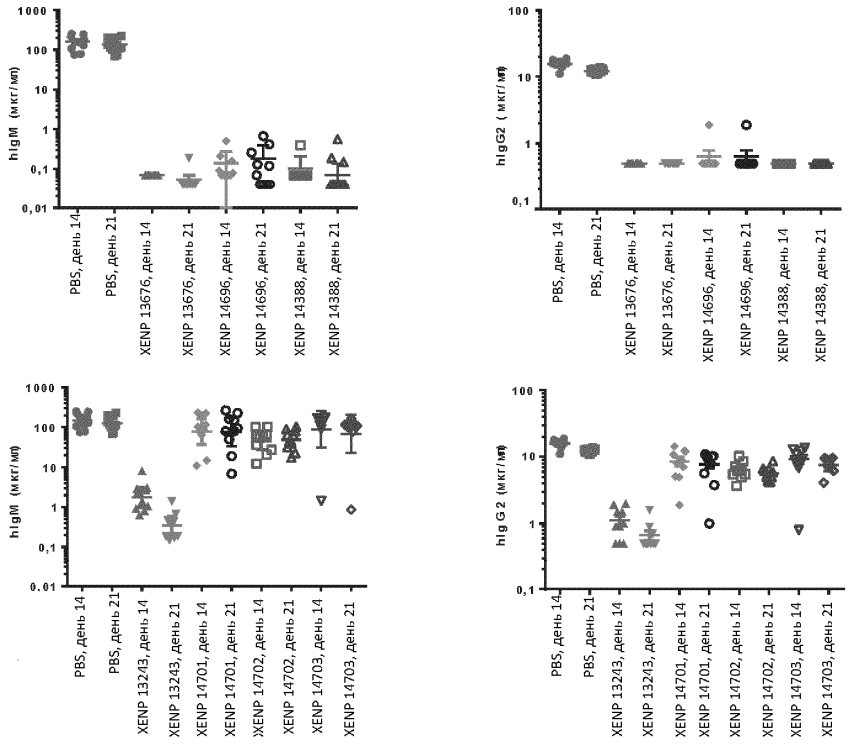
Фиг. 63

ХЕНР	Аффинность к CD38	aCD3 scFv-Fc	K _D (нМ)*	Кратность снижения связывания относительно H1.30_L1.47
13243	низкая	H1.30_L1.47	4,91	1
14701	низкая	H1.31_L1.47	1640	330
14702	высокая	H1.31_L1.47	1640	330
14703	очень низкая	H1.31_L1.47	1640	330

Фиг. 64

Пул	Количество ДНК (%)			Гетеродимер ХЕНР13243 (%)	Гетеродимер ХЕНР13551 (%)
	Легкая цепь	HC1 (Fab-Fc)	HC2 (scFv-Fc)		
A	47,4	31,6	21,1	65,6	57,6
B	42,9	28,6	28,6	61,2	83,5
C	37,5	25,0	37,5	96,2	90,5
D	33,3	22,2	44,4	92,8	84,4
E	54,5	27,3	18,2	--	65,7
F	50,0	25,0	25,0	93,0	91,1
G	44,4	22,2	33,3	85,7	89,6
H	40,0	20,0	40,0	95,0	100,0

Фиг. 65



Фиг. 66

VH ID	VL ID	Замены в VH	Замены в VL
H1	L1.4		
H1.30	L1.47	N30S/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.33	L1.47	N30S/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.31	L1.47	N30S/N35S/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.32	L1.47	N30S/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.88	L1.47	N30S/N100P	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.89	L1.47	N30S/N100D/S100AE	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.90	L1.47	N30S/N100D/S100AP	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.91	L1.47	N30S/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.92	L1.47	N30S/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.93	L1.47	N30S/N100E	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.94	L1.47	N30S/N100Q	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.96	L1.47	N30S/N100D/S100AN	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.97	L1.47	N30S/N100D/S100AQ	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.98	L1.47	N30S/Y52CA/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.99	L1.47	N30S/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.100	L1.47	N30S/N100A/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.101	L1.47	N30S/N100Q/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.102	L1.47	N30S/N100D/S100AE/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.103	L1.47	N30S/N100D/S100AN/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.104	L1.47	N30S/N100D/S100AP/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.105	L1.47	N30S/N100D/S100AQ/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H

Фиг. 67А

VH ID	VL ID	Замены в VH	Замены в VL
H1.106	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.107	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100A	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.108	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100Q	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.109	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H

Фиг. 67В

H1_L1.4

SEQ ID NO:210

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGTCLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:211

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGTCLTVL

SEQ ID NO:212

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:213

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFSGGTCLTVL

Фиг. 68А. Последовательности к CD3

H1.30_L1.47

SEQ ID NO:214

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGTCLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:215

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGTCLTVL

SEQ ID NO:216

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:217

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFSGGTCLTVL

Фиг. 68В

H1.33_L1.47

SEQ ID NO:218

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:219

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

SEQ ID NO:220

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO:221

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

Фиг. 68C

H1.31_L1.47

SEQ ID NO:222

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:223

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

SEQ ID NO:224

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO:225

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

Фиг. 68D

H1.32_L1.47

SEQ ID NO:226

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:227

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:228

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:229

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68E

H1.88_L1.47

SEQ ID NO:230

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:231

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:232

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:233

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68F

H1.89_L1.47

SEQ ID NO:234

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWGVRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGT KLT VLGSHHHHHH

SEQ ID NO:235

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWGVRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGT KLT VLGSHHHHHH

SEQ ID NO:236

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWGVRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO:237

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFSGGT KLT VLGSHHHHHH

Фиг. 68G

H1.90_L1.47

SEQ ID NO:238

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWGVRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGT KLT VLGSHHHHHH

SEQ ID NO:239

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWGVRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFSGGT KLT VLGSHHHHHH

SEQ ID NO:240

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWGVRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO:241

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFSGGT KLT VLGSHHHHHH

Фиг. 68H

H1.91_L1.47

SEQ ID NO:242

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRI RSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFEGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:243

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRI RSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFEGGKLTVL

SEQ ID NO:244

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRI RSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:245

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFEGGKLTVL

Фиг. 68I

H1.92_L1.47

SEQ ID NO:246

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRI RSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFEGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:247

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRI RSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFEGGKLTVL

SEQ ID NO:248

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRI RSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:249

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFEGGKLTVL

Фиг. 68J

H1.93_L1.47

SEQ ID NO:250

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLVGVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGT LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:251

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLVGVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGT LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO:252

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLVGVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGT LVTVSS

SEQ ID NO:253

QAVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFVGGGTKLTVL

Фиг. 68K

H1.94_L1.47

SEQ ID NO:254

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLVGVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGT LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:255

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLVGVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGT LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO:256

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLVGVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGT LVTVSS

SEQ ID NO: 257

QAVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFVGGGTKLTVL

Фиг. 68L

H1.96_L1.47

SEQ ID NO: 258

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGL~~EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQ~~AVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 259

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGL~~EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQ~~AVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 260

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGL~~EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO: 261

QAVVTQE~~PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS~~
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68М

H1.97_L1.47

SEQ ID NO: 262

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGL~~EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQ~~AVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 263

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGL~~EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQ~~AVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 264

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN~~WVRQAPGKGL~~EWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO: 265

QAVVTQE~~PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS~~
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68N

H1.98_L1.47

SEQ ID NO: 266

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 267

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 268

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO: 269

QAVVTQE PSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68O

H1.99_L1.47

SEQ ID NO: 270

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 271

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGT LVT VSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 272

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO: 273

QAVVTQE PSLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68P

H1.100_L1.47

SEQ ID NO: 274

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKG~~RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFDYWGQGLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 275

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKG~~RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFDYWGQGLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 276

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKG~~RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 277

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68Q

H1.101_L1.47

SEQ ID NO: 278

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKG~~RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGQGLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 279

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKG~~RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGQGLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 280

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKG~~RFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 281

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68R

H1.102_L1.47

SEQ ID NO: 282

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 283

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 284

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 285

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68S

H1.103_L1.47

SEQ ID NO: 286

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDNYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 287

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDNYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 288

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDNYVSWFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 289

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68T

H1.104_L1.47

SEQ ID NO: 290

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO: 291

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 292

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 293

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68U

H1.105_L1.47

SEQ ID NO: 294

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO: 295

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDE
 ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 296

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
 KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 297

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68V

H1.106_L1.47

SEQ ID NO: 298

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
 EADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 299

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
 EADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

SEQ ID NO: 300

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 301

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

Фиг. 68W

H1.107_L1.47

SEQ ID NO: 302

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
 EADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 303

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
 EADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

SEQ ID NO: 304

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 305

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
 GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFVGGGKLTVL

Фиг. 68X

H1.108_L1.47

SEQ ID NO: 306

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 307

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 308

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 309

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68Y

H1.109_L1.47

SEQ ID NO: 310

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO: 311

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

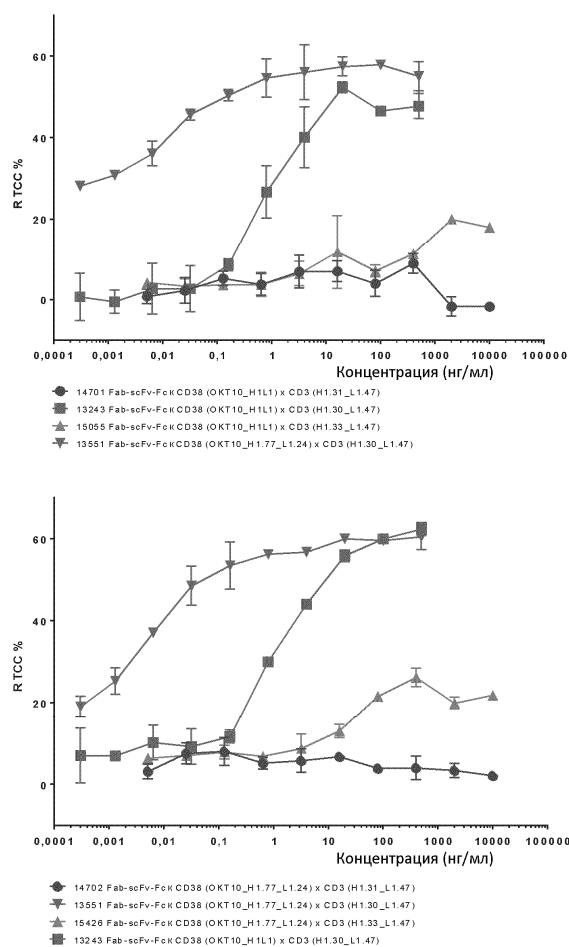
SEQ ID NO: 312

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFDSYVSWFDYWGQGLTVTVSS

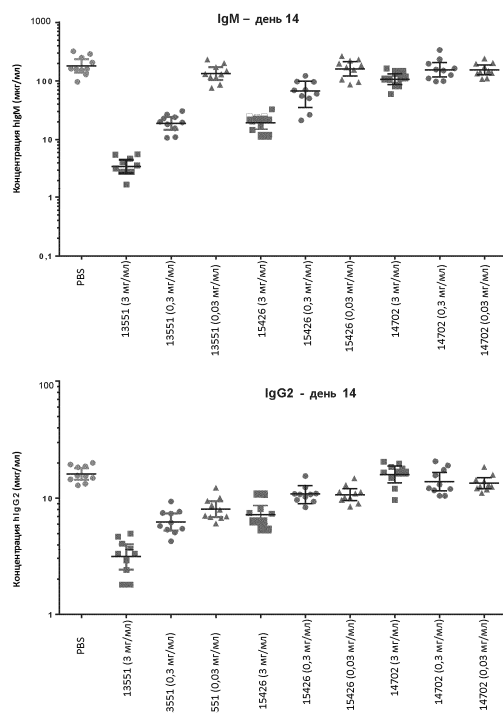
SEQ ID NO: 313

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68Z



Фиг. 69



Фиг. 70

XENP15049, Fab-scFv-Fc κ CD19 (4G7_H1.227_L1.199) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:314)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYFTFSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:315)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCTPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:316)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVNDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 71

XENP15051, Fab-scFv-Fc κ CD19 (4G7_H1.227_L1.199) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:317)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYFTFSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:318)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCTPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:319)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVNDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 72

XENP15050, Fab-scFv-Fc κ CD19 (4G7_H1.227_L1.199) x CD3 (H1.33_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:320)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:321)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:322)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTLYWFQKQPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPTITGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 73

XENP13676, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:323)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:324)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:325)

QIVLTQSPSSLASVGDRTITCRASSSVSIHWFQKQPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 74

XENP14696, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:326)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:327)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:238)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPRFAKVKWVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 75

XENP15629, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.32_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:329)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:330)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNHWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:331)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPRFAKVKWVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 76

XENP15053, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.33_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:332)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSED AVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:333)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFYWGQGTTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHVWFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREMQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:334)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVSIHWFFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 77

XENP15630, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.88_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:335)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSED AVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:336)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGTTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHVWFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREMQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:337)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVSIHWFFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 78

XENP15631, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.89_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:338)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:339)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREMQMTKNQVCLTVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:340)

QIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSIHWVFQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 79

XENP15632, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.90_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:341)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:342)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREMQMTKNQVCLTVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:343)

QIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSIHWVFQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 80

XENP15633, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.91_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:344)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:345)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:346)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASSSVYIHWFQQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 81

XENP15634, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.92_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:347)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:348)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:349)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASSSVYIHWFQQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 82

XENP15635, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.93_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:350)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:351)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVQLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:352)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVSIHWVFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 83

XENP15636, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.94_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:353)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:354)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVQLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:355)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVSIHWVFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 84

XENP15638, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.95_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:356)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDNAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:357)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDNAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:358)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASSSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 85

XENP15639, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1L1) x CD3 (H1.96_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:359)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSI
STAYMELSSLRSEDNAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:360)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDNAVYYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:361)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASSSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQWTSNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 86

XENP13677, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.30_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:362)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLIEWMGAIIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:363)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:364)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRFAKQVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 87

XENP14388 Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.31_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:365)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLIEWMGAIIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:366)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:367)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRFAKQVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 88

XENP14389, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.32_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:368)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHLEHNNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:369)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHLEHNNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:370)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASWSVSYIHWFQKQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 89

XENP14390, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.33_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:371)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHLEHNNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:372)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHLEHNNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:373)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASWSVSYIHWFQKQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 90

XENP14391, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.88_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:374)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:375)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:376)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTTITCRASWSVSIHWFQKQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 91

XENP14392, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.89_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:377)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:378)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:379)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTTITCRASWSVSIHWFQKQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 92

XENP14393, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.90_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:380)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLIEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:381)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:382)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFQKQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 93

XENP16366, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.98_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:383)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLIEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDVAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:384)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:385)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFQKQKPGKSPKPLIYATSNLASGVVPRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 94

XENP16367, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.99_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:386)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:387)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTVLKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:388)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 95

XENP16368, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.100_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:389)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:390)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGASVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTVLKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:391)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 96

XENP16369, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.101_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:392)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLIEWMGAIPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:393)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:394)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFQKQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 97

XENP16370, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.102_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:395)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLIEWMGAIPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:396)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:397)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFQKQKPGKSPKLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 98

XENP16371, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.103_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:398)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:399)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:400)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFAQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 99

XENP16372, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.104_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:401)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:402)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:403)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSIHWFAQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 100

XENP16373, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.105_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:404)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:405)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDQYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:406)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 101

XENP16374, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.106_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:407)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:408)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:409)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSYIHWFQQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 102

XENP16375, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.107_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:410)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:411)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:412)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSYIHWFQKQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 103

XENP16376, Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.108_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:413)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGQPEN
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:414)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:415)

QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASWSVSYIHWFQKQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 104

Fab-scFv-Fc κ CD20 (C2B8_H1.202_L1.113) x CD3 (H1.109_L1.47)

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:416)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSA
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSPDIAVEWESDGGQPEN
NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (scFv-Fc) (SEQ ID NO:417)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEP
SLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGAALTSGAQPEDEA
DYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:418)

QIVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASWSVSYIHWFQKQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDF
ATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQEQ
SVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 105

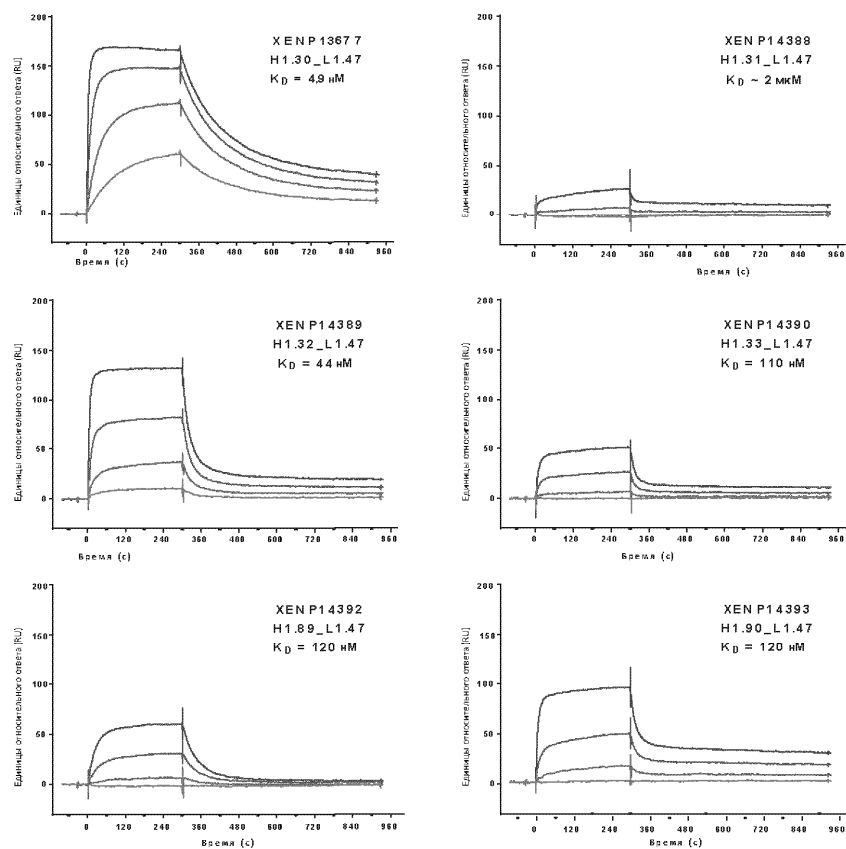
>sp|P11836|CD20_HUMAN B-лимфоцитарный антиген CD20
SEQ ID NO:419

MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPLFRRMSSLVGPTQSFMRRESKTLGAVQIMNG
LFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTWYPLWGGIMYIISGSLAATEKNSRKCLVKGMIMN
SLSLFAAISGMILSIMDILNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNPST
QYCYSIQSLFLGILSVMLIAFFQELVIAGIVENEWKRTCSRPKSNIVLLSAEEKKEQTI
EIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEIPIQEEEEETETNFPEPPQDQESSPIENDSSP

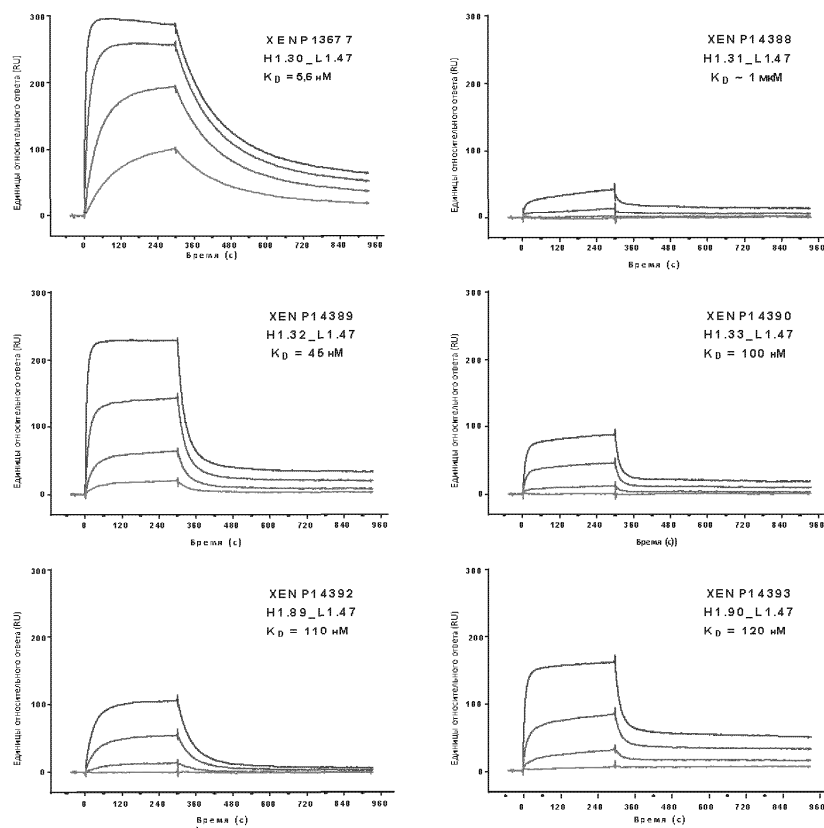
>sp|P26951|IL3RA_HUMAN альфа-субъединица рецептора интерлейкина-3 (CD123)
SEQ ID NO:420

MVLLWLTLIIALPCLLQTKEDPNPPITNLRMKAKAQLTWDLNRNVTIDIECVKDADYSM
PAVNNSYCQFGAISLCEVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPWAGAENLTCWIHDVDFL
SCSWAVGPGAPADVQYDLYLNANRRQQYECLHYKTDAGTRIGCRFDDISRLSSGSQSS
HILVRGRSAAFGIPCTDKFVVSQIEILTPPNMTAKCNKTHSFMHWKMRSHFNRFYEL
QIQKRMQPVITEQVRDRTSFQLLNPGTYTVQIRARERYEFLSAWSTPQRFECDDQEEGAN
TRAWRTSLIIALGTLALVCVFVICRRYLVMQRLFPRIPHMKDPIGDSFQNDKLVVWEAG
KAGLEECLVTEVQVQKT

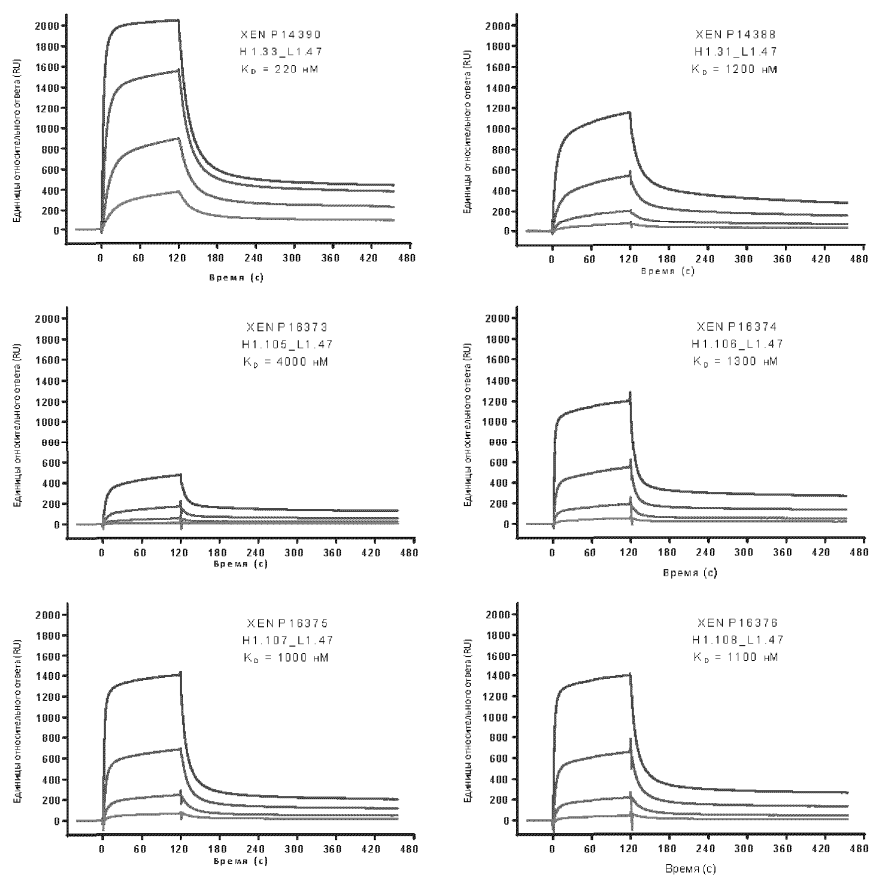
Фиг. 106



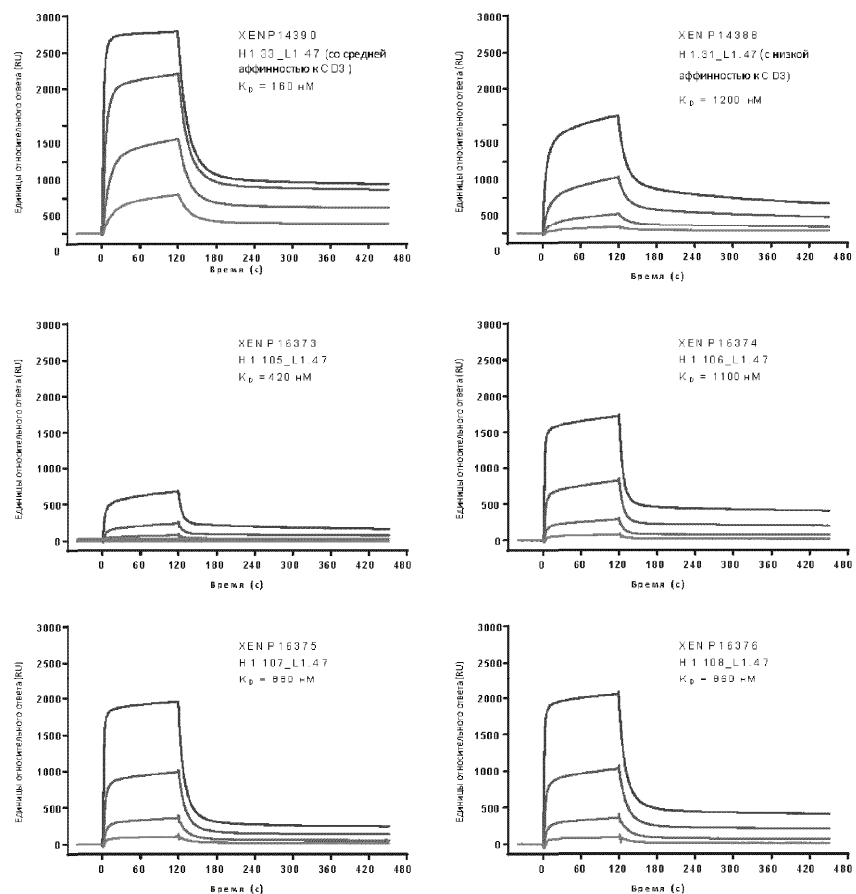
Фиг. 107



Фиг. 108

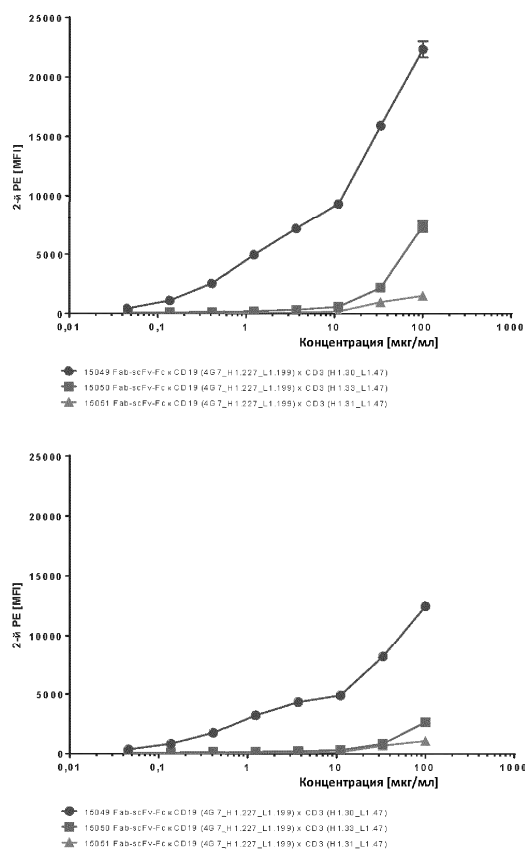


Фиг. 109

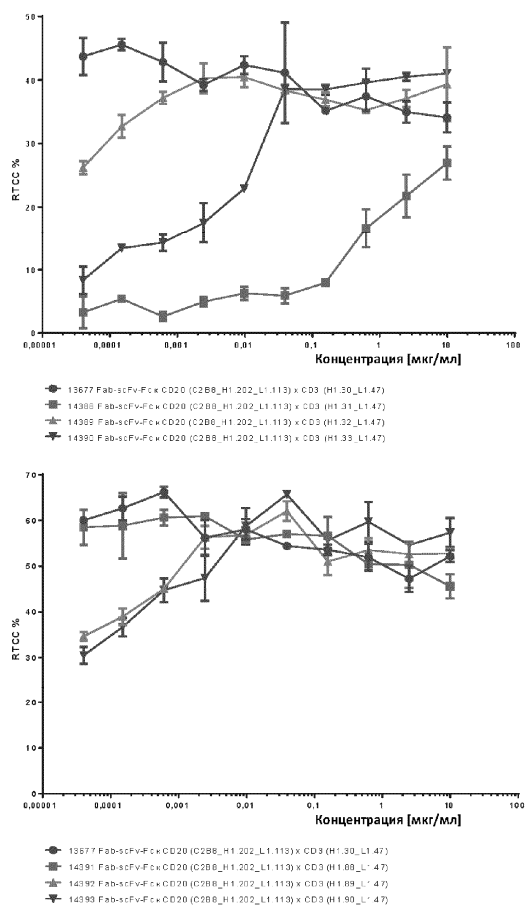


Фиг. 110

036156

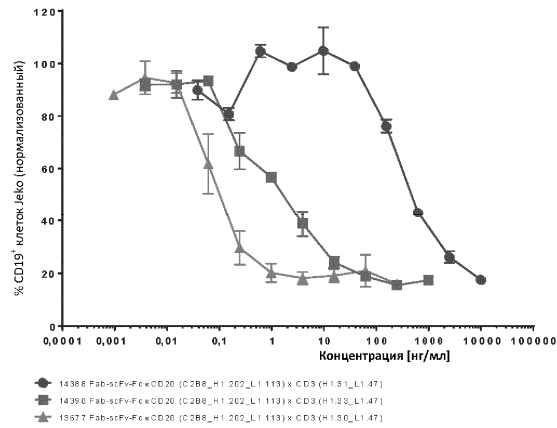


Фиг. 111

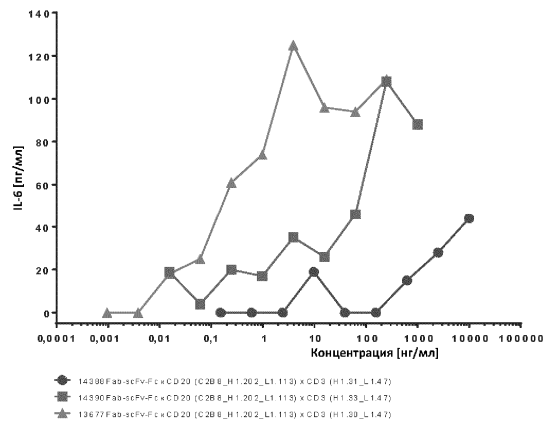


Фиг. 112

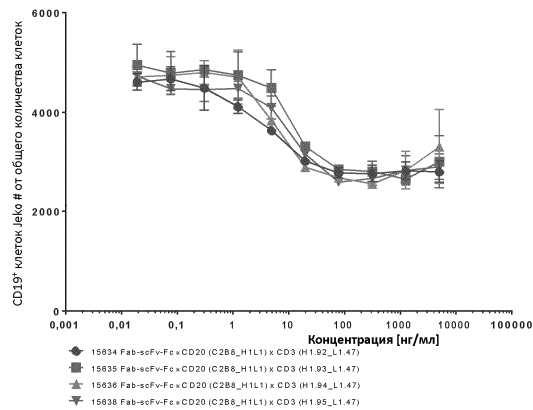
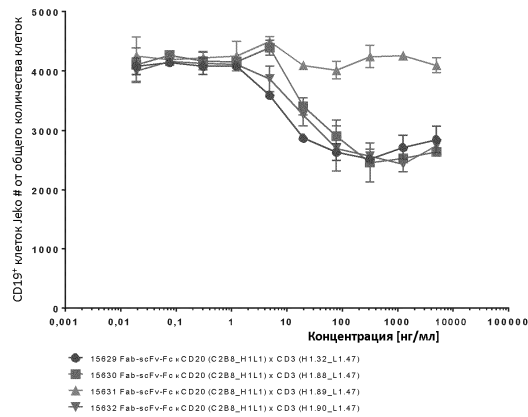
036156



Фиг. 113

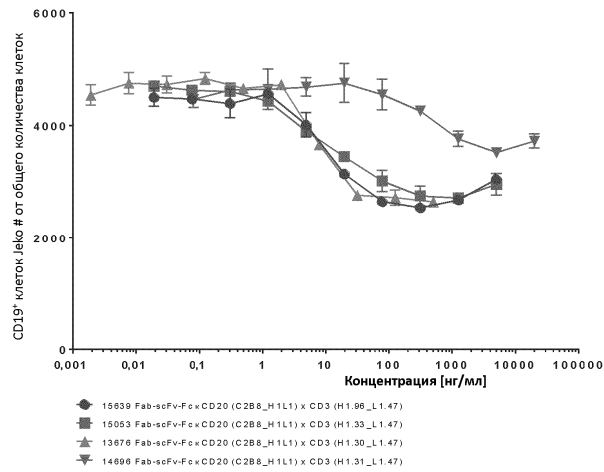


Фиг. 114

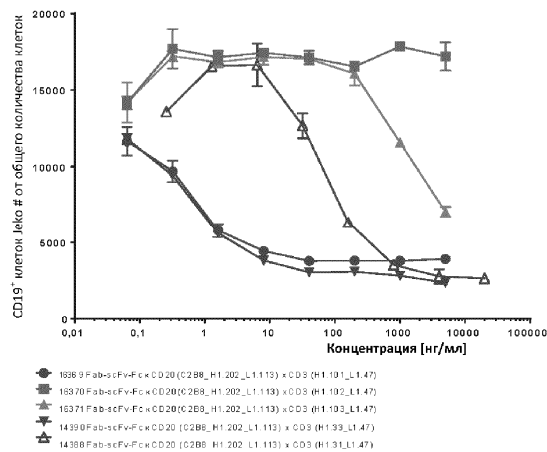
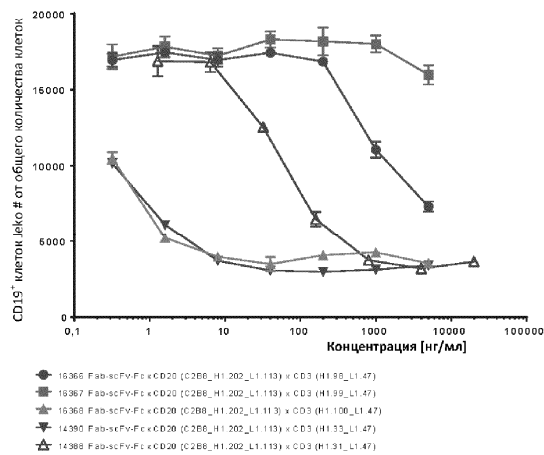


Фиг. 115А

036156

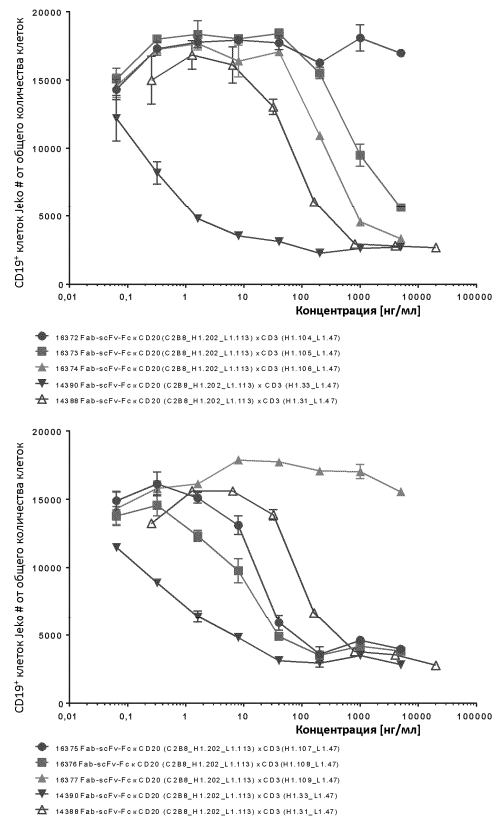


Фиг. 115В

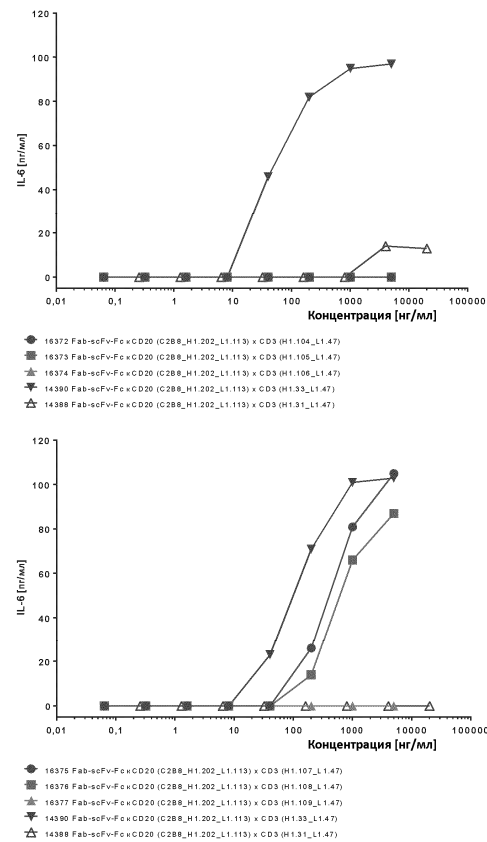


Фиг. 116А

036156

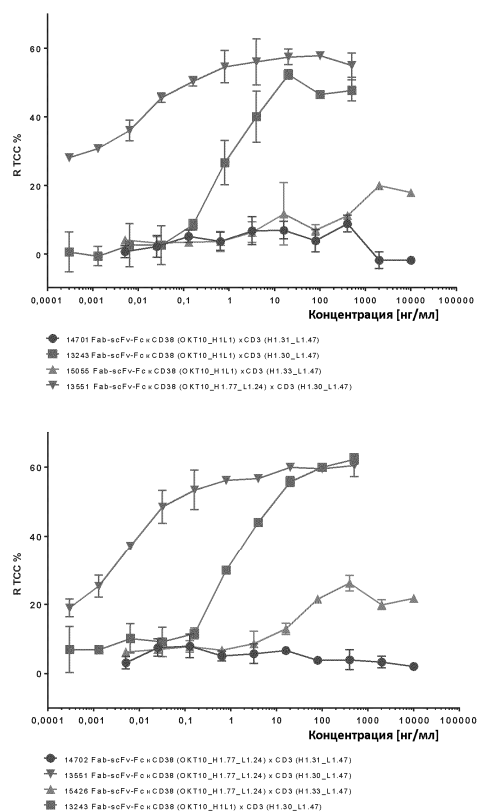


Фиг. 116В



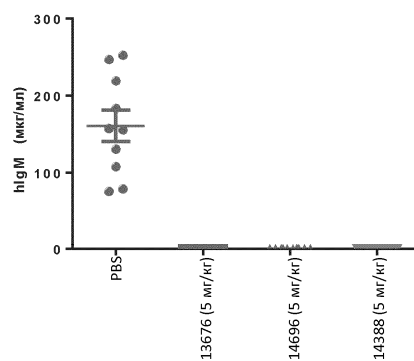
Фиг. 117

036156

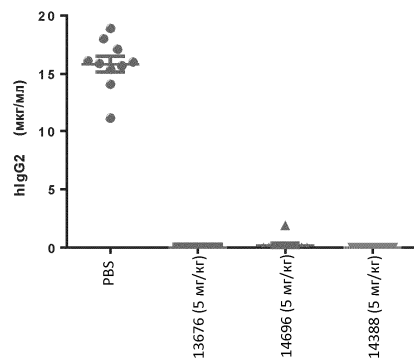


Фиг. 118

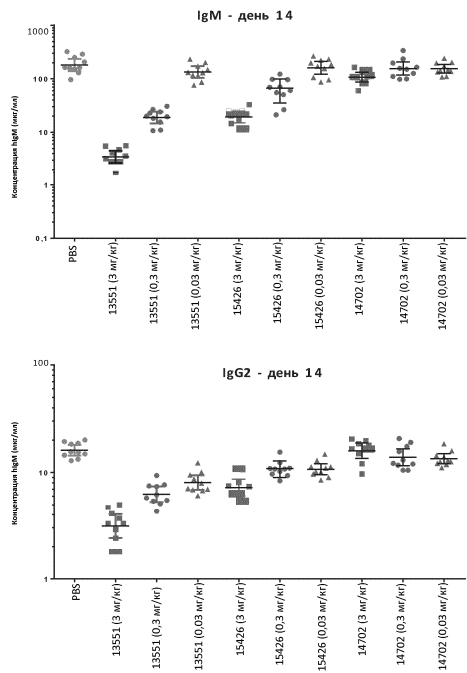
IgM - день 14



IgG2 - день 14



Фиг. 119



Фиг. 120

С высокой аффинностью к CD20 C2B8_H1.202_L1.113

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельны й домен тяжелой цепи (vh)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTWVRQAPGQRLIEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSS	421
vhCDR1	SYNMH	422
vhCDR2	AIYPGNGATSYSQKFQG	423
vhCDR3	SYYMGGDWYFDV	424
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QIVLTQSPSSLASVGDRTVITCRASWSVSYIHWFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYY CQQWTHNPPTFGGGTKVEIK	425
vlCDR1	RASWSVSYIH	426
vlCDR2	ATSNLAS	427
vlCDR3	QQWTHNPPT	428
scFv (в т.ч. заряженный линкер)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTWVRQAPGQRLIEWMGAIYPGNGATSYSQKFQGRVTITADTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARSYYMGGDWYFDVWGAGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQIVLTQSPSSLASVGDRTVITCRASW SVSYIHWFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWTHNPPTFGGGTKVEIK	429

Фиг. 121

С низкой аффинностью к CD20 C2B8_H1L1

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYNMHHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSISTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSS	430
vhCDR1	SYNMH	431
vhCDR2	AIYPGNGDTSYNQKFQG	432
vhCDR3	STYYGGDWYFNV	433
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	QIVLTQSPSSLASVGDRTVITCRASSSVSYIHWFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC QQWTSNPPTFGGGTKVEIK	434
vlCDR1	RASSSVSYIH	435
vlCDR2	ATSNLAS	436
vlCDR3	QQWTSNPPT	437
scFv (в т.ч. заряженный линкер)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYNMHHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQKFQGRVTITADKSISTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQIVLTQSPSSLASVGDRTVIT CRASSSVSYIHWFQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQWTSNPPTFGGGTKVEIK	438

Фиг. 122

CD123 7G3_H1.109_L1.57

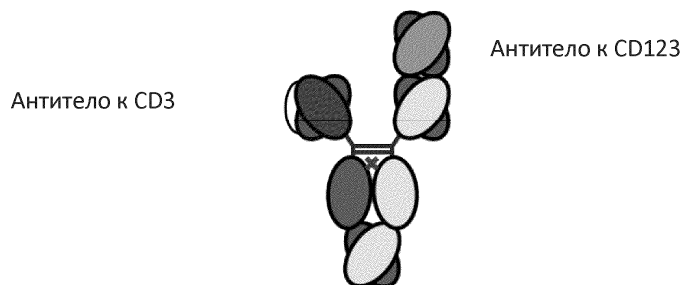
Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Варибельный домен тяжелой цепи (vh)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLEWMGDIIPSN GATFYNQKFKG KATLTVDRSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSHLLRASWFAYWGQGT LVTVSS	439
vhCDR1	DYYMK	440
vhCDR2	DIIPSN GATFYNQKFKG	441
vhCDR3	SHLLRASWFAY	442
Варибельный домен легкой цепи (vl)	DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNTGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PD RFTGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQNDYSYPYTFGGG TKLEIK	443
vlCDR1	KSSQSLNTGNQKNYLT	444
vlCDR2	WASTRES	445
vlCDR3	QNDYSYPYT	446
scFv (в т.ч. заряженный линкер)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLEWMGDIIPSN GATFYNQKFKG KATLTVDRSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSHLLRASWFAYWGQGT LVTVSS GKPGSGKPGSGKPGSGSD FV MTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSLNTGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PD RFTGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYSYPYTFG GGT TKLEIK	447

Фиг. 123

		С высокой аффинностью к CD3	С аффинностью от высокой до средней №1 к CD3	С аффинностью от высокой до средней №2 к CD3	С аффинностью от высокой до средней №1 к CD3	Со средней аффинностью к CD3	С низкой аффинностью к CD3
		антитело к CD3 H1.30_L1.47	антитело к CD3 H1.32_L1.47	антитело к CD3 H1.89_L1.47	антитело к CD3 H1.90_L1.47	антитело к CD3 H1.33_L1.47	антитело к CD3 H1.31_L1.47
С высокой аффинностью к CD38	OKT10 H1.77_L1.24	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
Со средней аффинностью к CD38	OKT10 H1L1.24	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
С низкой аффинностью к CD38	OKT10 H1L1	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
С высокой аффинностью к CD20	C2B8_H1.20 2_L1.113	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
С низкой аффинностью к CD20	C2B8_H1L1	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
CD123	7G3_H1.109_L1.57	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F

Фиг. 124

Fab-scFv-Fc к CD123 × CD3



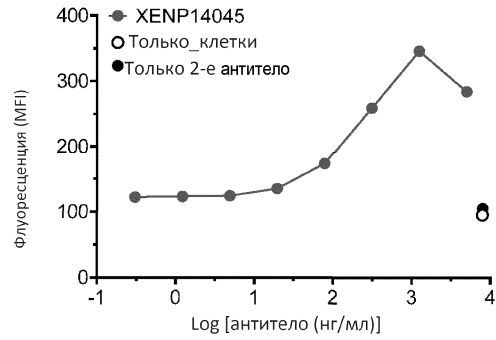
Фиг. 125

Номер ХЕНР	Вариант	Замена (VH)	Замена (VL)	Кратность увеличения скорости диссоциации по сравнению с H1L1	Tm (°C)
13760	7G3_H0L0_Fab_His	H0	L0	7,21	68,0
13761	7G3_H1L1_Fab_His	H1	L1	-----	70,0
13253	7G3_H1.1_L1_Fab_His	D31S	L1	0,88	69,5
13254	7G3_H1.2_L1_Fab_His	D31N	L1	0,95	69,5
13255	7G3_H1.3_L1_Fab_His	D31E	L1	0,83	70,0
13256	7G3_H1.4_L1_Fab_His	D31H	L1	0,81	69,5
13257	7G3_H1.5_L1_Fab_His	D31R	L1	0,47	70,0
13278	7G3_H1.26_L1_Fab_His	S56N	L1	1,12	69,5
13279	7G3_H1.27_L1_Fab_His	S56G	L1	2,05	69,5
13281	7G3_H1.29_L1_Fab_His	S56E	L1	1,32	70,0
13283	7G3_H1.31_L1_Fab_His	S56H	L1	1,43	69,5
13288	7G3_H1.36_L1_Fab_His	N59G	L1	1,69	68,5
13291	7G3_H1.39_L1_Fab_His	N59R	L1	0,45	68,0
13292	7G3_H1.40_L1_Fab_His	N59Y	L1	0,64	68,5
13294	7G3_H1.42_L1_Fab_His	T101A	L1	3,30	71,5
13318	7G3_H1.62_L1_Fab_His	L109Y	L1	1,38	69,0
13331	7G3_H1.75_L1_Fab_His	A111Q	L1	1,00	70,0
13735	7G3_H1.86_L1_Fab_His	Q69K R71K V72A M74L	L1	4,61	68,5
13736	7G3_H1.87_L1_Fab_His	K12V	L1	0,94	68,5
13737	7G3_H1.88_L1_Fab_His	P43H	L1	0,96	70,0
13738	7G3_H1.89_L1_Fab_His	M50I	L1	1,29	70,0
13740	7G3_H1.91_L1_Fab_His	E86H	L1	1,04	70,0
13741	7G3_H1.92_L1_Fab_His	R91T	L1	1,89	70,0
13742	7G3_H1.93_L1_Fab_His	Q1E V5Q A9P V11L K12V	L1	1,04	72,5
13743	7G3_H1.94_L1_Fab_His	R40K A42S P43H Q45K	L1	0,65	72,0
13744	7G3_H1.95_L1_Fab_His	V5Q	L1	1,24	69,0
13344	7G3_H1_L1.3_Fab_His	H1	N31S	2,77	68,5
13347	7G3_H1_L1.6_Fab_His	H1	N31Q	2,15	67,0
13854	7G3_H1_L1.56_Fab_His	H1	S32A	0,68	70,0
13855	7G3_H1_L1.57_Fab_His	H1	S32T	0,84	70,5
13349	7G3_H1_L1.8_Fab_His	H1	S32Q	Нет данных	70,5
13350	7G3_H1_L1.9_Fab_His	H1	S32V	0,98	70,5
13351	7G3_H1_L1.10_Fab_His	H1	S32E	0,98	70,8
13352	7G3_H1_L1.11_Fab_His	H1	S32K	1,00	70,5
13353	7G3_H1_L1.12_Fab_His	H1	S32Y	0,86	69,5

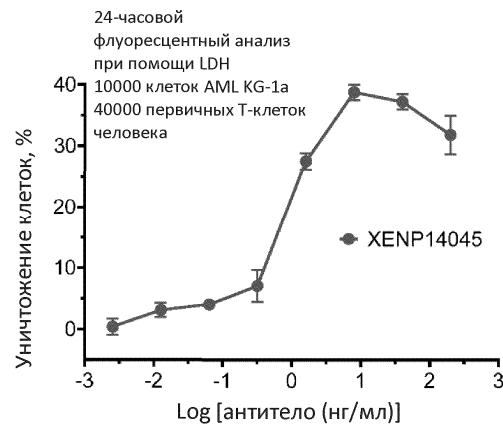
Фиг. 126

Номер ХЕНР	Вариант	Замена (VH)	Замена (VL)	K _{оп} (M ⁻¹ c ⁻¹)	K _{off} (c ⁻¹)	K _A (1/M)	K _D (M)	Tm (°C)
13760	7G3_H0L0_Fab_His	H0	L0	6,74E+05	1,08E-04	6,25E+09	1,60E-10	68,0
13761	7G3_H1L1_Fab_His	H1	L1	3,95E+05	8,20E-04	4,81E+08	2,08E-09	70,0
13961	7G3_H1.107_L1_Fab_His	H1 - V5Q R40K A42S P43H Q45K Q69K R71K V72A M74L T101A	L1	6,00E+05	8,84E-05	6,79E+09	1,47E-10	71,0
13963	7G3_H1.109_L1_Fab_His	H1 - V5Q R40K A42S P43H Q45K Q69K R71K V72A M74L T101A	L1	7,45E+05	5,53E-05	1,35E+10	7,42E-11	73,0
13965	7G3_H1.107_L1.57_Fab_His	H1 - V5Q Q69K R71K V72A M74L T101A	S32T	6,12E+05	3,82E-05	1,60E+10	6,24E-11	71,5
13967	7G3_H1.109_L1.57_Fab_His	H1 - V5Q R40K A42S P43H Q45K Q69K R71K V72A M74L T101A	S32T	6,55E+05	6,25E-05	1,05E+10	9,54E-11	73,5

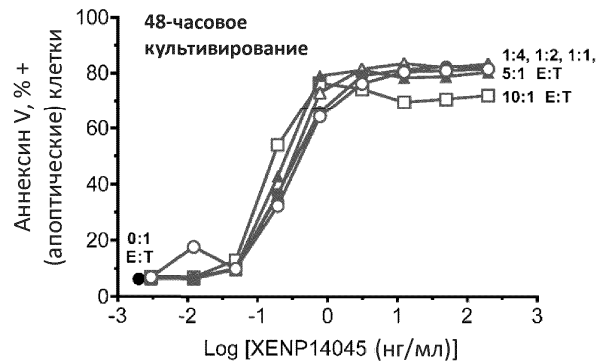
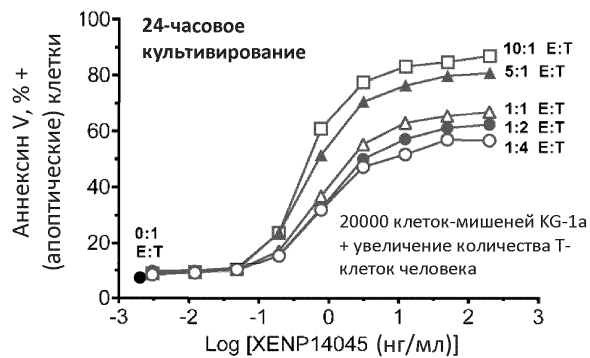
Фиг. 127

Биспецифическое связывание α CD123 $\times$ α CD3 с клетками KG-1

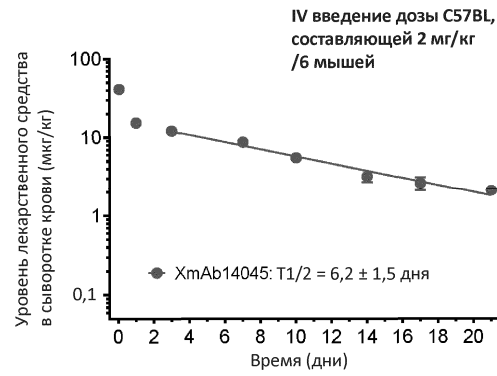
Фиг. 128



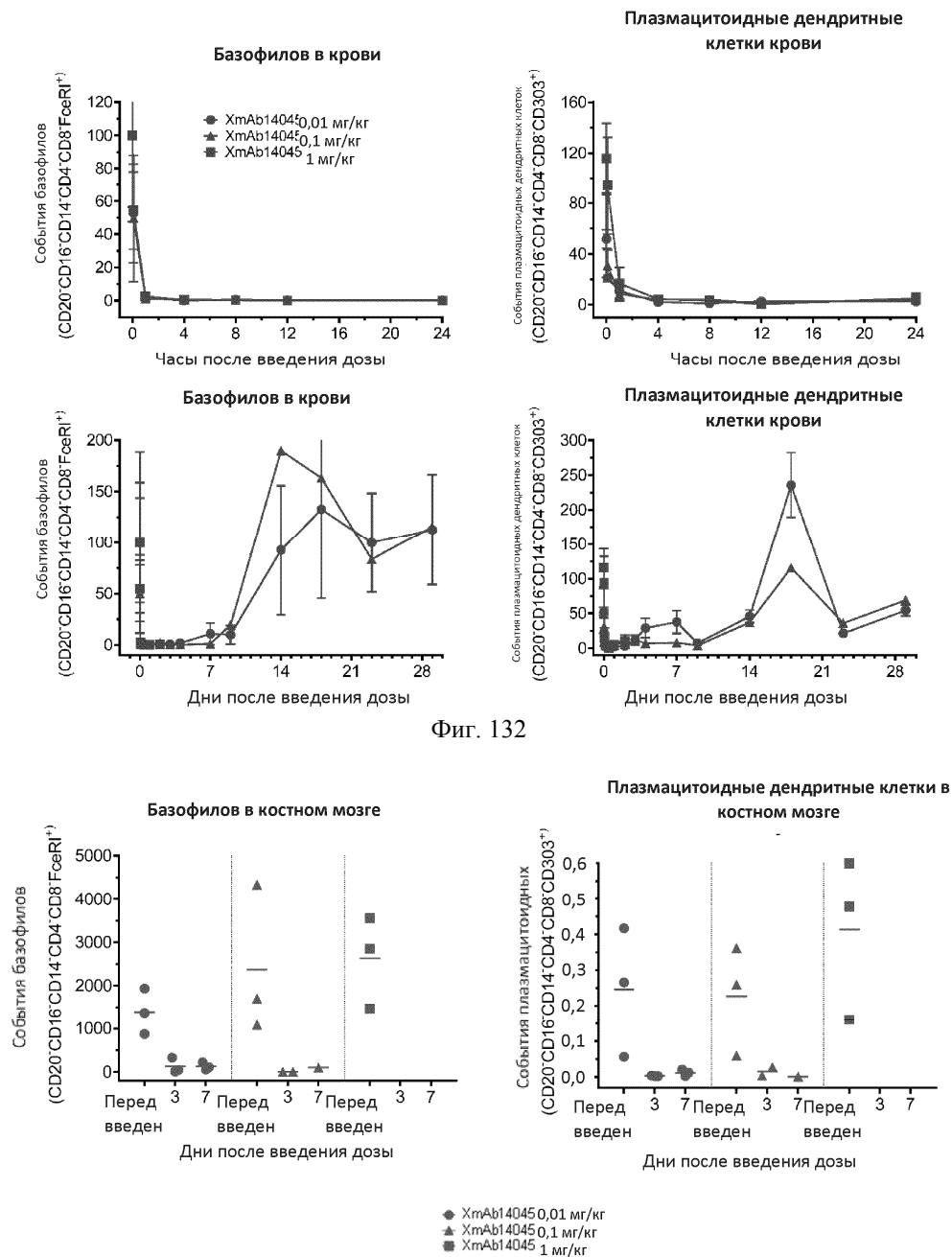
Фиг. 129



Фиг. 130

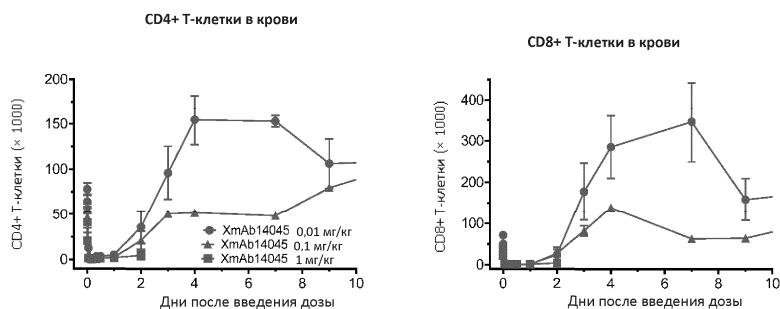


Фиг. 131

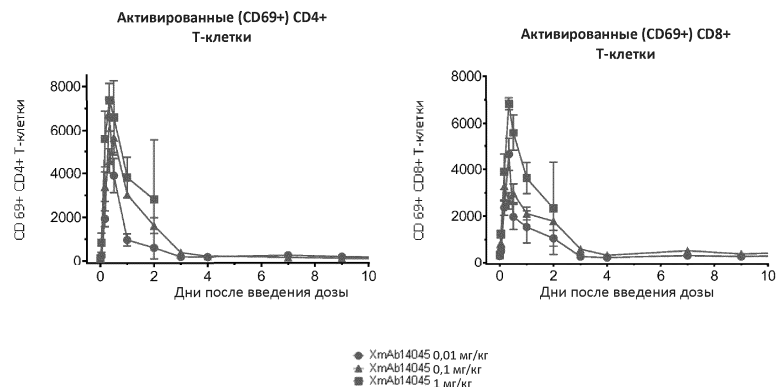


Фиг. 132

Фиг. 133



Фиг. 134



Фиг. 135

XENP13760 7G3 H0L0 Fab His-тяжелая цепь

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLEWIGDIIPSN~~GA~~TFYNQKFKGKATLTVDRSSST
AYMHLNSLTSEDSAVYYCTRSHLLRASWFA~~Y~~WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSHHHHHH
(SEQ ID NO:453)

XENP13760 7G3 H0L0 Fab His-легкая цепь

DFVMTQSPD~~SL~~AVSLGERATINCKSSQ~~SL~~NSGNQK~~NY~~LWY~~LQ~~KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL
TIS~~SLQ~~AEDVAVYYCQNDYSYPYTFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:454)

XENP13761 7G3 H1L1 Fab His-тяжелая цепь

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMKWVRQAPGQSLEWMGDIIPSN~~GA~~TFYNQKFGKGRVTMTVD~~RS~~
TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSHLLRASWFA~~Y~~WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSHHHHHH
(SEQ ID NO:455)

XENP13761 7G3 H1L1 Fab His-легкая цепь

DFVMTQSPD~~SL~~AVSLGERATINCKSSQ~~SL~~NSGNQK~~NY~~LWY~~Q~~KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL
TIS~~SLQ~~AEDVAVYYCQNDYSYPYTFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:456)

XENP13961 7G3 H1.107 L1 Fab His-тяжелая цепь

QVQLQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMKWVRQAPGQSLEWMGDIIPSN~~GA~~TFYNQKFKGKATLTVDRST
STAYMELSSLRSEDTAVYYCARSHLLRASWFA~~Y~~WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSHHHHHH
(SEQ ID NO:457)

XENP13961 7G3 H1.107 L1 Fab His-легкая цепь

DFVMTQSPD~~SL~~AVSLGERATINCKSSQ~~SL~~NSGNQK~~NY~~LWY~~Q~~KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL
TIS~~SLQ~~AEDVAVYYCQNDYSYPYTFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:458)

XENP13963 7G3 H1.109 L1 Fab His-тяжелая цепь

QVQLQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLEWMGDIIPSN~~GA~~TFYNQKFKGKATLTVDRSTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARSHLLRASWFA~~Y~~WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSHHHHHH
(SEQ ID NO:459)

XENP13963 7G3 H1.109 L1 Fab His-легкая цепь

DFVMTQSPD~~SL~~AVSLGERATINCKSSQ~~SL~~NSGNQK~~NY~~LWY~~Q~~KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL
TIS~~SLQ~~AEDVAVYYCQNDYSYPYTFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:460)

Фиг. 136A

XENP13965 7G3 H1.107 L1.57 Fab His-тяжелая цепь

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYMKWVVRQAPGQSLSEWMGDIIPSN~~GA~~TFYNQKF~~KG~~KATLTVD~~R~~ST
STAYMELSSRLSEDTAVYYCARSHLLRASWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSHHHHHH
(SEQ ID NO:461)

XENP13965 7G3 H1.107 L1.57 Fab His-легкая цепь

DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNTGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV~~PD~~RFTGSGSGTDFT
LTISSLQAE~~D~~AVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLNNFY~~P~~REAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:462)

XENP13967 7G3 H1.109 L1.57 Fab His-тяжелая цепь

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLSEWMGDIIPSN~~GA~~TFYNQKF~~KG~~KATLTVD~~R~~STS
TAYMELSSRLSEDTAVYYCARSHLLRASWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSHHHHHH
(SEQ ID NO:463)

XENP13967 7G3 H1.109 L1.57 Fab His-легкая цепь

DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNTGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV~~PD~~RFTGSGSGTDFT
LTISSLQAE~~D~~AVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLNNFY~~P~~REAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:464)

Тяжелая цепь 1 Fab-scFv-Fc XENP13928 к CD123 × CD3 (Fab-Fc к CD123 (7G3 H0))

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLSEWIGDIIPSN~~GA~~TFYNQKF~~KG~~KATLTVD~~R~~SSST
AYMHNLNLSLSEDTAVYYCTRSHLLRASWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:465)

Тяжелая цепь 2 Fab-scFv-Fc XENP13928 к CD123 × CD3 (scFv-Fc к CD3 (α CD3 H1.30 L1.47))

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKGLSEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:466)

Легкая цепь Fab-scFv-Fc XENP13928 к CD123 × CD3 (LC к CD123 (7G3 L0))

DFVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLN~~SG~~NQKNYLTWYLQKPGQPPKLLIYWASTRESGV~~PD~~RFTGSGSGTDFT
LTISVQAE~~D~~LAVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLNNFY~~P~~REAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:467)

Фиг. 136B

Тяжелая цепь 1 Fab-scFv-Fc XENP14045 к CD123 × CD3 (Fab-Fc к CD123 (7G3 H1.109))

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYMKWVKQSHGKSLSEWMGDIIPSN~~GA~~TFYNQKF~~KG~~KATLTVD~~R~~STS
TAYMELSSRLSEDTAVYYCARSHLLRASWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:468)

Тяжелая цепь 2 Fab-scFv-Fc XENP14045 к CD123 × CD3 (scFv-Fc к CD3 (αCD3 H1.30 L1.47))

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKGLSEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:469)

Легкая цепь Fab-scFv-Fc XENP14045 к CD123 × CD3 (LC к CD123 (7G3 L1.57))

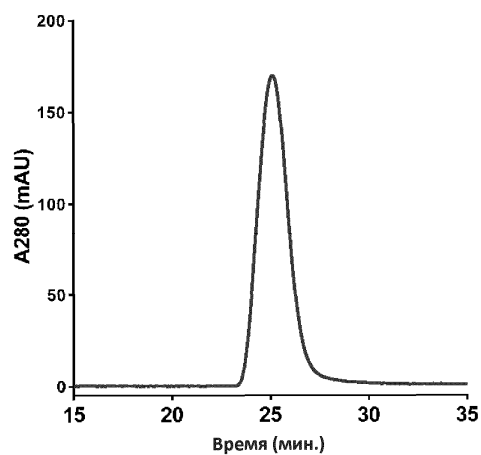
DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNTGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV~~PD~~RFTGSGSGTDFT
LTISSLQAE~~D~~AVYYCQNDYSYPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLNNFY~~P~~REAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:470)

Фиг. 136C

Пул	ДНК (%)			Гетеродимер (%)
	Легкая цепь	HC1 (Fab-Fc)	HC2 (scFv-Fc)	
A	50,0	25,0	25,0	23,3
B	44,4	22,2	33,3	84,9
C	40,0	20,0	40,0	72,2
D	36,4	18,2	45,5	66,6
E	37,5	25,0	37,5	54,1
F	42,9	28,6	28,6	83,8

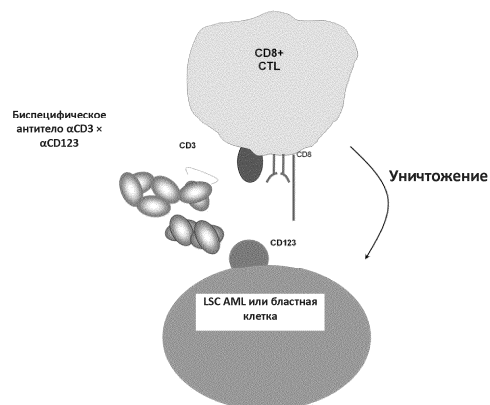
Состояние	Гетеродимер (%)
F2-01	96,9
F2-02	93,7
F2-04	92,8
F2-05	86,0
F2-07	100,0
F2-11	95,4
F2-13	94,8
F2-14	85,8
F2-15	85,8
F2-16	100,0
F2-21	82,0
F2-27	47,6

Фиг. 137

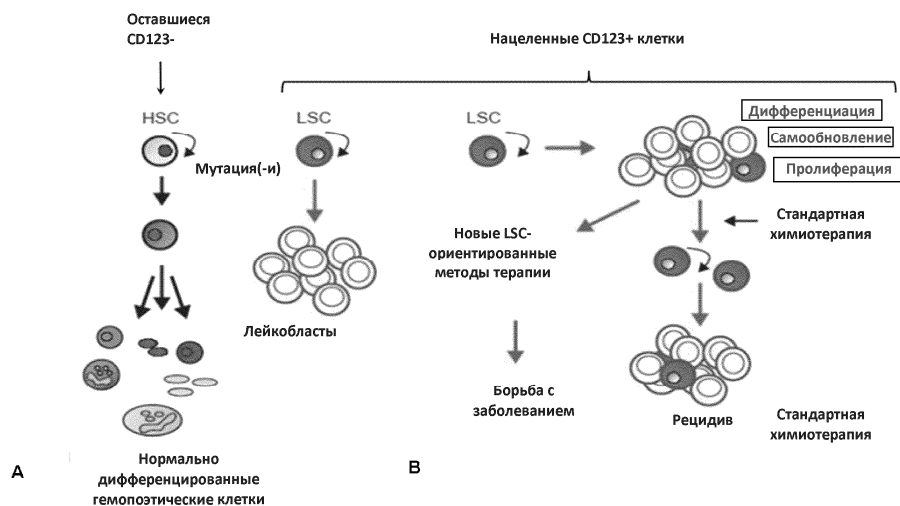


Фиг. 138

Уничтожение Т-клетками клеток CD123+

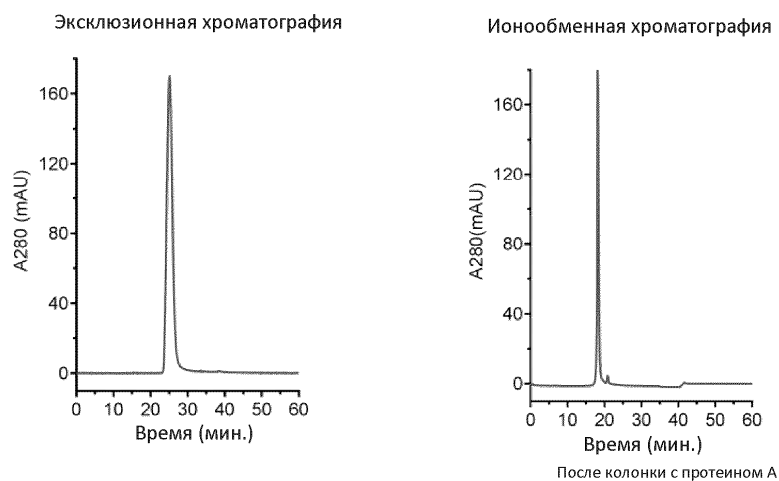


Фиг. 139



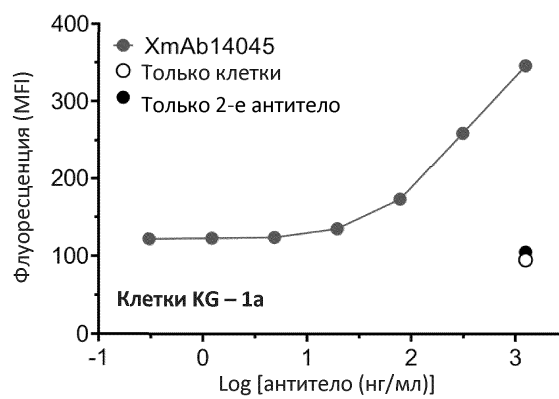
Фиг. 140

Эффективность получения биспецифических антител



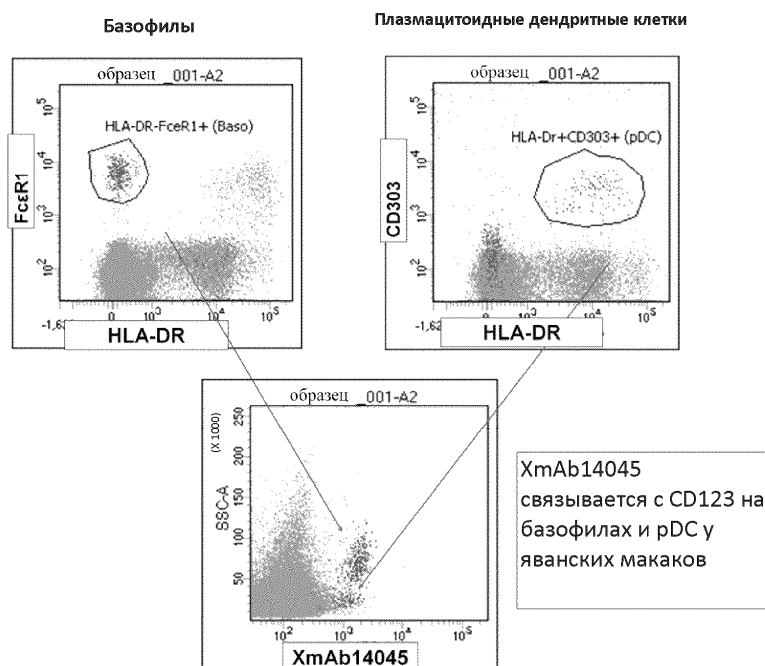
Фиг. 141

Клеточная линия AML человека



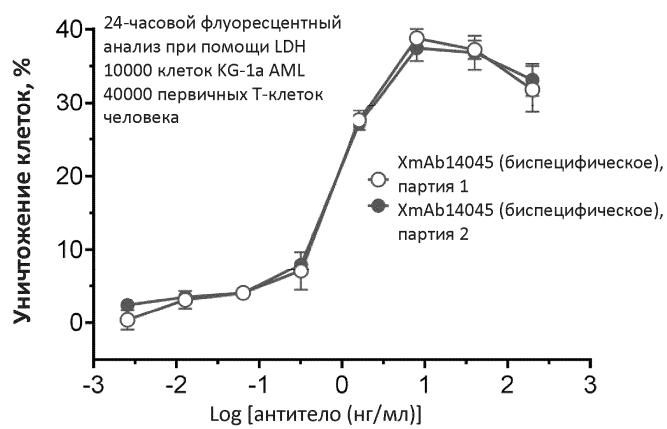
Фиг. 142

Перекрестное реагирование с
CD123 и клетками примата



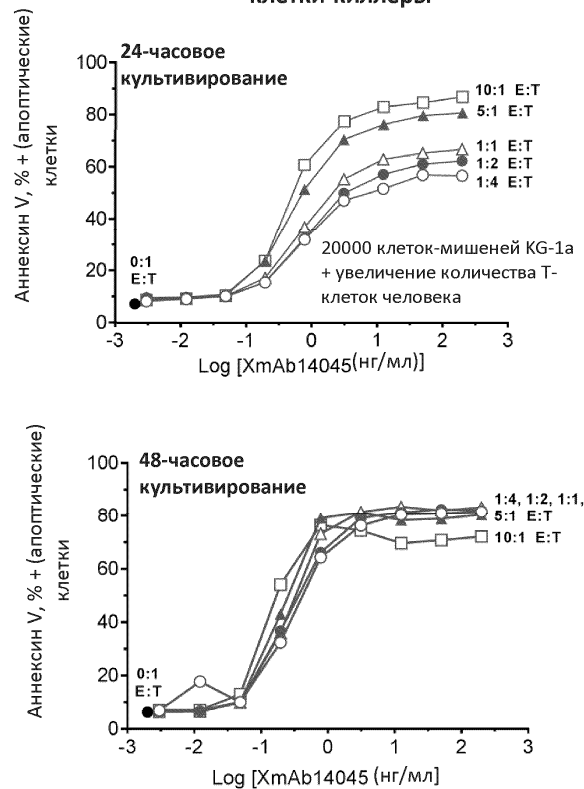
Фиг. 143

Уничтожение клеточной линии CD123+ AML



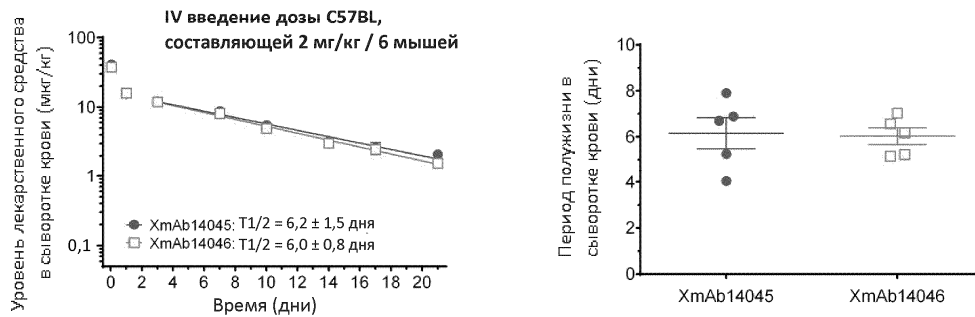
Фиг. 144

Т-клетки представляют собой серийные клетки-киллеры



Фиг. 145

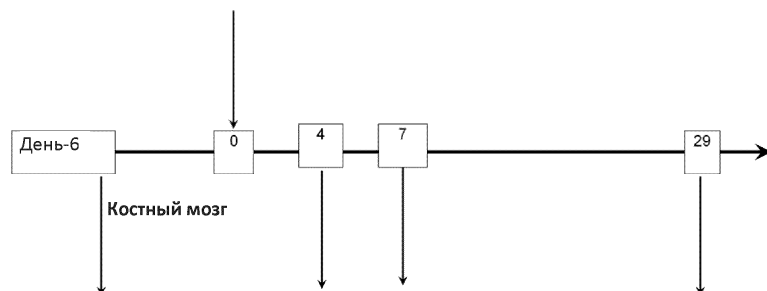
FC-содержащие биспецифические антитела, характеризующиеся длительным периодом полужизни у мышей



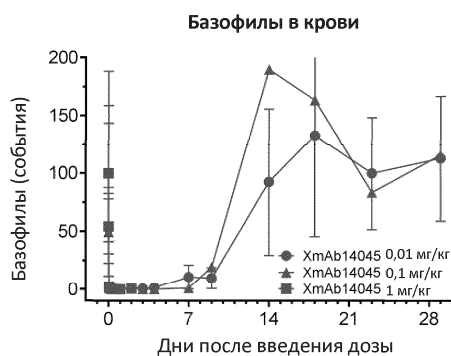
Фиг. 146

XmAb14045
10, 100 или 1000 мкг/кг

3 группы по 3 яванских тсмакака:

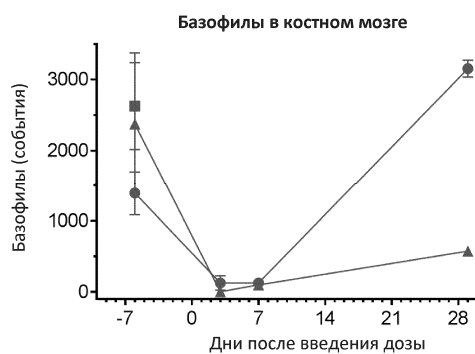


Фиг. 147



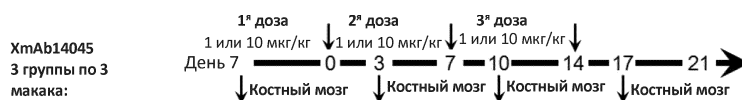
Гейт для базофилов, проточная цитометрия: CD20⁻ CD16⁻ CD14⁻ CD4⁻ CD8⁻ FcεRI⁺

Фиг. 148

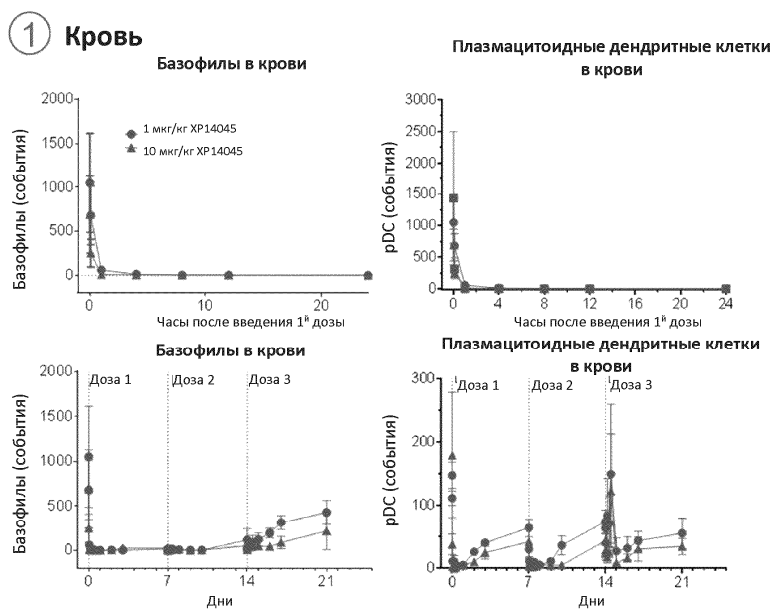


Фиг. 149

Истощение CD123⁺ клеток у обезьян за счет повторного введения низкой дозы XmaAb14045



Фиг. 150



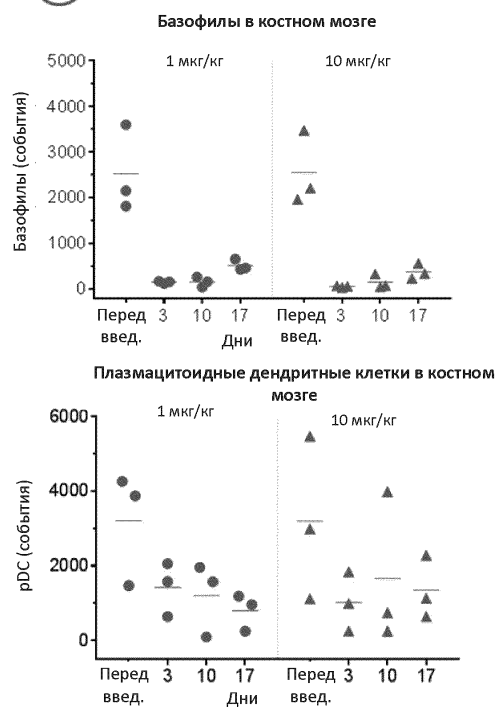
Гейт для базофилов, проточная цитометрия: CD20⁻ CD16⁻ CD14⁻ CD4⁻ CD8⁻ FcεRI⁺

Гейт для плазмацитонидных дендритных клеток,

проточная цитометрия: CD20⁻ CD16⁻ CD14⁻ CD4⁻ CD8⁻ CD303⁺

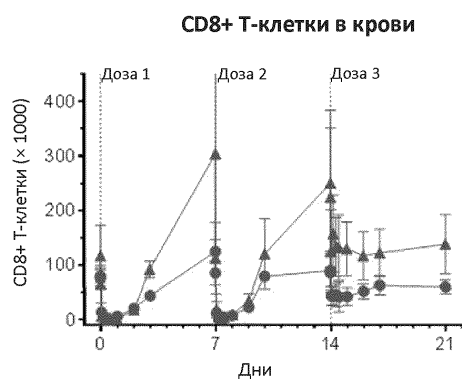
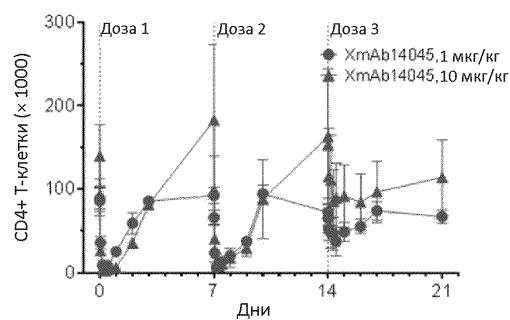
Фиг. 151

② Костный мозг

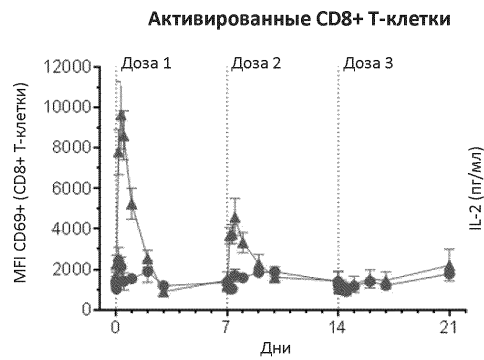
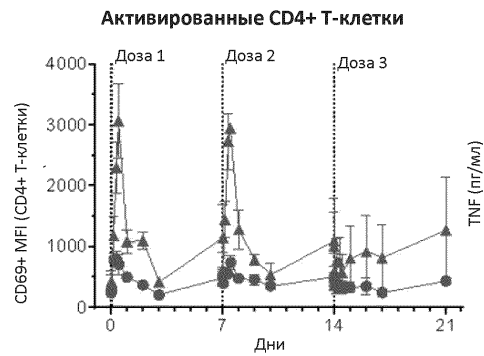


① Перераспределение Т-клеток

CD4+ Т-клетки в крови



② Активация Т-клеток



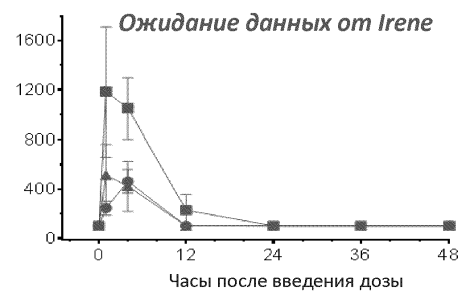
Фиг. 154

③ Высвобождение цитокинов

Уровни TNF в сыворотке крови

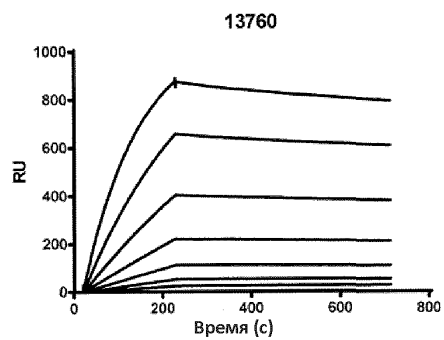


Уровни IL2 в сыворотке крови

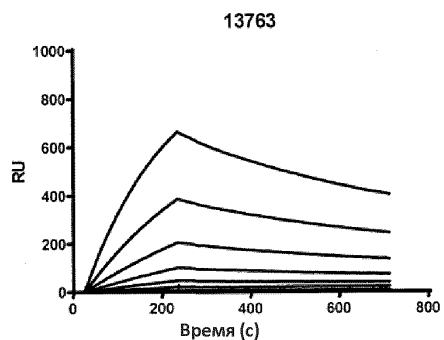


Фиг. 155

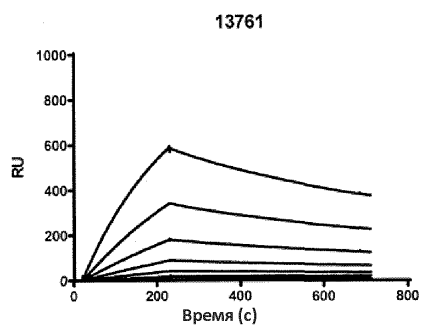
036156



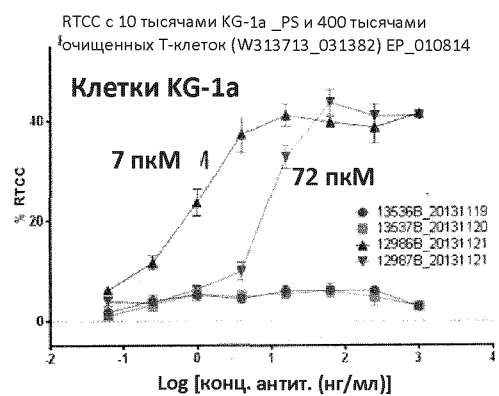
Фиг. 156А



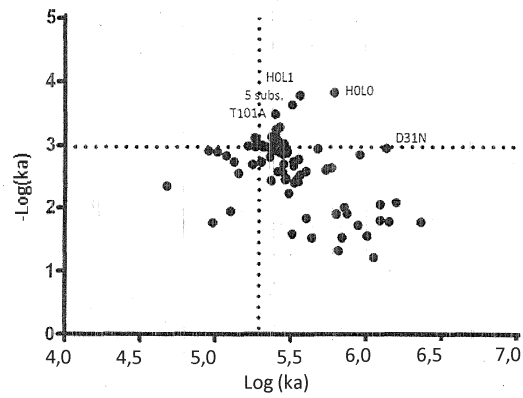
Фиг. 156В



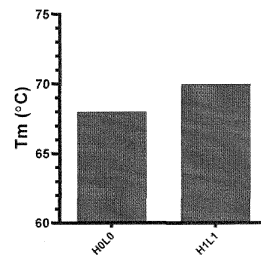
Фиг. 156С



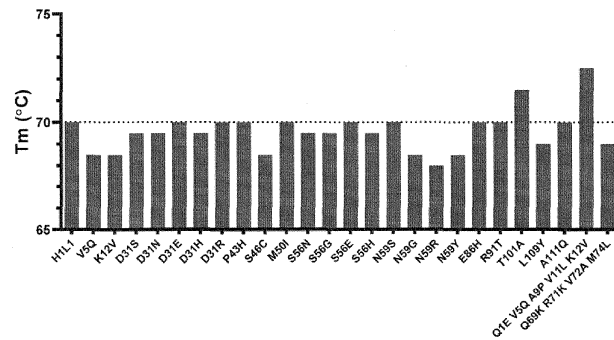
Фиг. 156D



Фиг. 157

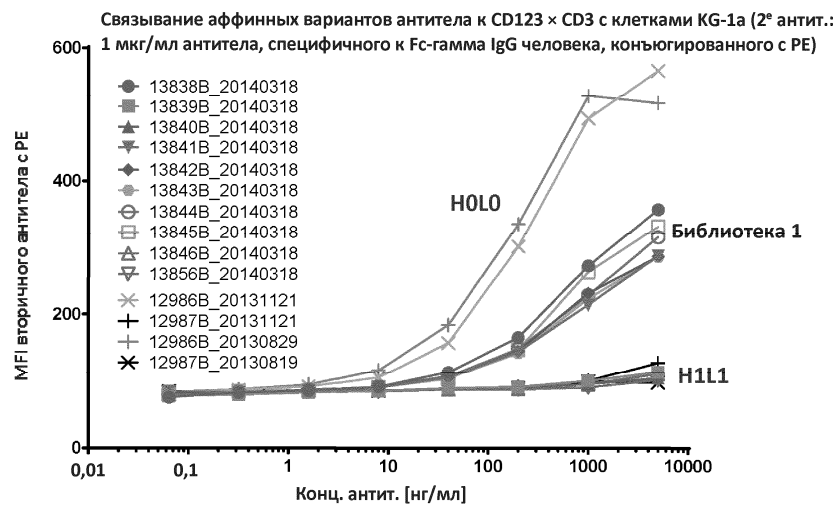


Фиг. 158А



Фиг. 158В

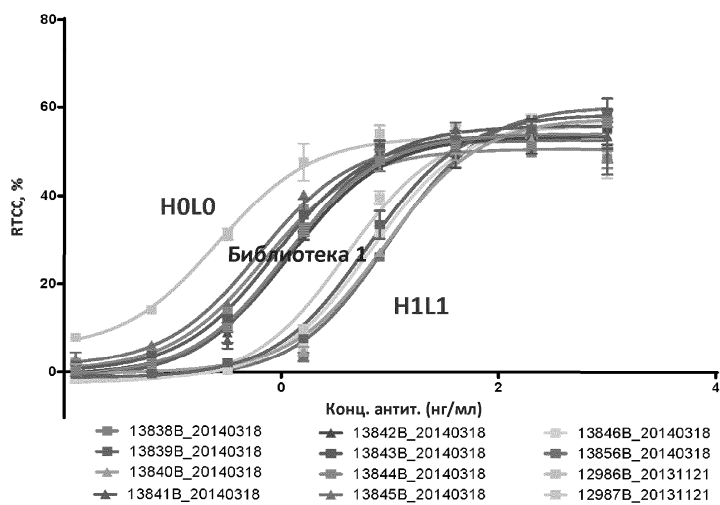
Связывание KG-1a



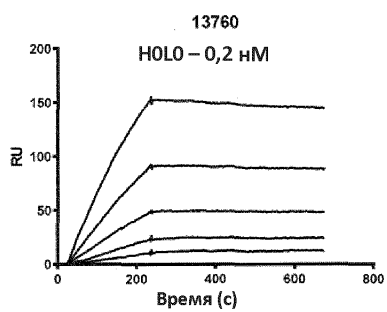
Фиг. 159А

RTCC KG-1a

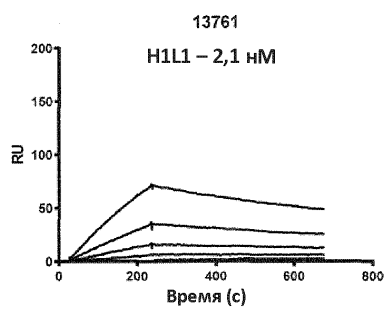
Преобразованные данные флуоресцентного анализа RTCC LDH с 10 тысячами KG-1a_P5 и 400 тысячами Т-клеток от RBMC W313714_034011



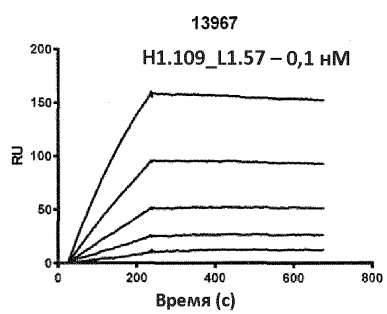
Фиг. 159B



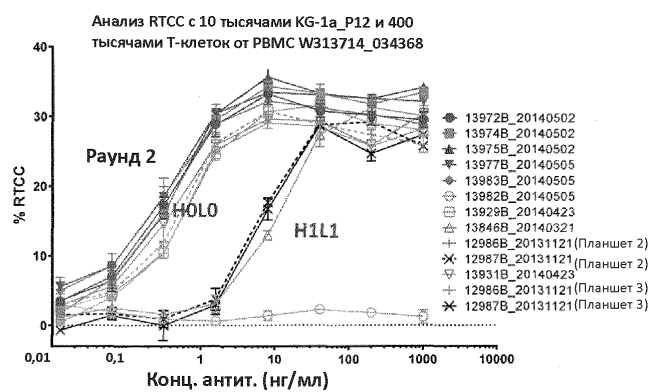
Фиг. 160А



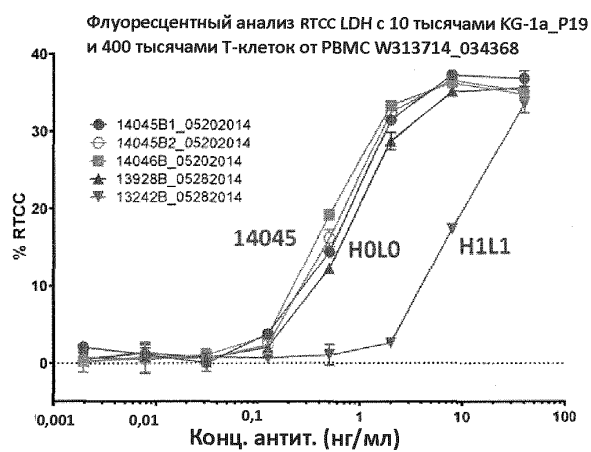
Фиг. 160В



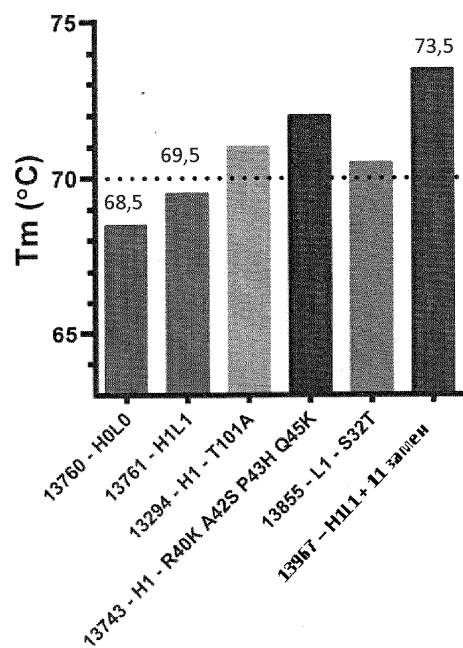
Фиг. 160С



Фиг. 160D



Фиг. 160E



Фиг. 161

Основная цепь "открывалки" 1

Тяжелая цепь стороны Fab (SEQ ID NO:471)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVS
GFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Тяжелая цепь scFv (SEQ ID NO:472)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVTFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константный домен легкой цепи (SEQ ID NO:473)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 162A

Основная цепь "открывалки" 2

Тяжелая цепь стороны Fab (SEQ ID NO: 474 [совпадает с основной цепью 1])

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVS
GFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Тяжелая цепь scFv (SEQ ID NO:475)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVTFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константный домен легкой цепи (SEQ ID NO: 476 [совпадает с основной цепью 1])

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 162B

Основная цепь "открывалки" 3

Тяжелая цепь стороны Fab (SEQ ID NO:477)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCEVS
GFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Тяжелая цепь scFv (SEQ ID NO:478)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVTFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константный домен легкой цепи (SEQ ID NO: 479 [совпадает с основной цепью 1])

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 162C

Основная цепь "открывалки" 4

Тяжелая цепь стороны Fab (SEQ ID NO:480)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAAGQPREPQVYTLPPSREEMTENEVSLTCLVKS
GFYPSDIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLEVDKSRWEQGDVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Тяжелая цепь scFv (SEQ ID NO:481)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDKSGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константный домен легкой цепи (SEQ ID NO: 482 [совпадает с основной цепью 1])

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 162D

Основная цепь mAb-scFv 1

Мономер 1 (сторона Fab-scFv) (SEQ ID NO:483)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVS
GFYPSDIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Мономер 2 (сторона Fab) (SEQ ID NO:484)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

Константный домен легкой цепи (SEQ ID NO: 485 [совпадает с основной цепью 1])

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 163



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2