201991922

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

- Дата публикации заявки (43)2020.02.19
- Дата подачи заявки (22)2018.02.15

(51) Int. Cl. *C07K 14/79* (2006.01) **C07K 14/705** (2006.01) **A61K 39/00** (2006.01) A61K 38/40 (2006.01)

СКОНСТРУИРОВАННЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ (54) ТРАНСФЕРРИНОВЫЙ РЕШЕПТОР

- (31) 62/460,692; 62/543,658; 62/583,314
- (32) 2017.02.17; 2017.08.10; 2017.11.08
- (33) US
- (86)PCT/US2018/018371
- (87)WO 2018/152326 2018.08.23
- (71) Заявитель:
 - ДЕНАЛИ ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)
- (72) Изобретатель:

Чэнь Сяочэн, Деннис Марк С., Кариолис Михалис, Сильверман Адам П., Шривастава Анкита, Ватс Райан Дж., Уэллс Роберт К., Дзукеро Джой Ю (US)

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

В данном изобретении предлагаются полипептиды, которые связываются с трансферриновым рецептором, способы получения таких полипептидов, а также способы применения указанных полипептидов для нацеливания какой-либо композиции на клетку, экспрессирующую трансферриновый рецептор.

СКОНСТРУИРОВАННЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТРАНСФЕРРИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР

Уровень техники

Разработаны различные методы, которые позволяют белку связываться с мишенью, с которой он обычно не связывается. Например, могут быть созданы библиотеки для скрининга сконструированных белков с желаемой связывающей или ферментативной активностью.

Трансферриновый рецептор является белком-носителем для трансферрина, который, помимо других функций, необходим для импорта железа в клетку и регулируется в ответ на внутриклеточную концентрацию железа. Трансферриновые рецепторы экспрессируются на эндотелии, включая эндотелий гематоэнцефалического барьера, и экспрессируются в повышенных уровнях на различных раковых клетках и воспалительных клетках. Это один из рецепторов, который обеспечивает трансцитоз родственных лигандов через гематоэнцефалический барьер. Таким образом, трансферриновые рецепторы могут быть желательными мишенями для введения агента в клетку либо для эндоцитоза в клетке, либо для трансцитоза через клетку.

Краткое описание изобретения

Авторы изобретения разработали полипептиды, которые включают СН2-домены и СН3-домены, способные связывать трансферриновый рецептор (TfR). Эти полипептиды были сконструированы с заменами в СН2-домене или СН3-домене, которые генерируют новый сайт связывания TfR. TfR на высоких уровнях экспрессируется на клетках гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), и TfR естественным образом переносит трансферрин из крови в мозг. Поскольку эти полипептиды связывают TfR, они также могут транспортироваться через ГЭБ и, кроме того, могут использоваться для транспортировки прикрепленных терапевтических агентов. (например, терапевтических полипептидов, вариабельных областей антител, такие как Fab, и небольших молекул) через ГЭБ. Этот подход может существенно улучшить поглощение головным мозгом терапевтических агентов и поэтому является очень полезным для лечения нарушений и заболеваний, при которых доставка в головной мозг является предпочтительной.

В одном аспекте предлагаются полипептиды, содержащие модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя аминокислотных положений, включающем в себя 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и

194, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 114-220 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих в себя 153, 164, 165 и 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид связывается с апикальным доменом трансферринового рецептора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид связывается с трансферриновым рецептором без ингибирования связывания трансферрина с трансферриновым рецептором. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид связывается с эпитопом, который содержит аминокислоту 208 последовательности трансферринового рецептора.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Тгр в положении 161. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит ароматическую аминокислоту в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная ароматическая аминокислота в положении 194 представляет собой Тгр или Phe.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 157, представляющего собой Leu, Туг, Met или Val; положения 159, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 160, представляющего собой Val, Pro или кислую аминокислоту; положения 161, представляющего собой Trp или Gly; положения 162, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 186, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 189, представляющего собой Thr или кислую аминокислоту; и положения 194, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит две, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 157, представляющего собой Leu, Tyr, Met или Val; положения 159, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 160, представляющего собой Val, Pro или кислую аминокислоту; положения 161, представляющего собой Trp или Gly; положения 162, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 186, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 189, представляющего собой Thr или кислую аминокислоту; и положения 194, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Leu или Met в положении 157; Leu, His или Pro в положении 159; Val в положении 160; Trp или Gly в положении 161; Val или Ala в положении 162; Pro в положении 186; Thr в положении 189; и/или Trp в положении 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 157, представляющего собой Leu, Туг, Met или Val; положения 159, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 160, представляющего собой Val, Pro, положения 161, представляющего собой Trp; 162, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 186, положения представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro (например, Thr или Pro); положения 189, представляющего собой Thr или кислую аминокислоту; и положения 194, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит две, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 157, представляющего собой Leu, Tyr, Met или Val; положения 159, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 160, представляющего собой Val, Pro или кислую аминокислоту; положения 161, представляющего собой Trp; 162, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro (например, Thr или Pro); положения 189, представляющего собой Thr или кислую аминокислоту; и положения 194, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Leu или Met в положении 157; Leu, His или Pro в положении 159; Val в положении 160; Trp в положении 161; Val или Ala в положении 162; Pro в положении 186; Thr в положении 189; и/или Trp в положении 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 164. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 153. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Gln, Phe или His в положении 165. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp в положении 153 и/или Gln в положении 165. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Gln в положении 188.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Туг в положении 157; Thr в положении 159; Glu или Val в положении 160; Trp в положении 161; Ser в положении 162; Ser или Thr в положении 186; Glu в положении 189; и/или Phe в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 153. В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный модифицированный СН3-домен данного дополнительно содержит Gln в положении 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp в положении 153 и/или Glu в положении 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Leu в положении 153 и/или Gln в положении 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Asn в положении 163.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество из следующих замен: Trp в положении 153; Thr в положении 159; Trp в положении 161; Val в положении 162; Ser или Thr в положении 186; Glu в положении 188; и/или Phe в положении 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранных из следующих положений: положения 187, представляющего собой Lys, Arg, Gly или Pro; положения 197, представляющего собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положения 199, представляющего собой Ser, Trp или Gly.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 114-220 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит аминокислоты 157-163 и/или 186-194 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен включает в себя по меньшей мере одно положение,

выбранное из следующих положений: положения 153, представляющего собой Trp, Leu или Glu; положения 157, представляющего собой Туг или Phe; положения 159, представляющего собой Thr; положения 160, представляющего собой Glu; положения 161, представляющего собой Trp; положения 162, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 163, представляющего собой Ser или Asn; положения 186, представляющего собой Thr или Ser; положения 188, представляющего собой Glu или Ser; положения 189, представляющего собой Glu; и положения 194, представляющего собой Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений (например, 11 положений), выбранных из следующих положений: положения 153, представляющего собой Trp, Leu или Glu (например, Trp или Leu); положения 157, представляющего собой Туг или Phe; положения 159, представляющего собой Thr; положения 160, представляющего собой Glu; положения 161, представляющего собой Trp; положения 162, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 163, представляющего собой Ser или Asn; положения 186, представляющего собой Thr или Ser; положения 188, представляющего собой Glu или Ser; положения 189, представляющего собой Glu; и положения 194, представляющего собой Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит следующие аминокислоты: положение 153 представляет собой Тгр, Leu или Glu (например, Тгр или Leu);; положение 157 представляет собой Туг или Phe; положение 159 представляет собой Thr; положение 160 представляет собой Glu; положение 161 представляет собой Тгр; положение 162 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 163 представляет собой Ser или Asn; положение 186 представляет собой Thr или Ser; положение 188 представляет собой Glu или Ser; положение 189 представляет собой Glu; и положение 194 представляет собой Phe. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит аминокислоты 153-163 и/или 186-194 любой из SEQ ID NO: 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения остатки по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 (нап*ример, от* 11 до 16) положений, соответствующих положениям 153, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 163, 164, 165, 186, 187, 188, 189, 194, 197 и 199, определенных со ссылкой на SEQ ID NO: 1, не удаляют и не заменяют в SEQ ID NO: 4-29 или 236-299.

В любом из приведенных выше вариантов осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Тгр в положении 139 (Т139W) или (ii) Ser в положении 139 (Т139S), Ala в положении 141 (L141A) и Val в положении 180 (Y180V), при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В любом из приведенных выше вариантов осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Leu в положении 201 (М201L) и Ser в положении 207 (N207S) или (ii) Ser или Ala в положении 207 (N207S или N207A), при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 186, 188, 189, 194, 197 и 199; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp или Туг в положении 153; ароматическую аминокислоту, Met, Pro или Val в положении 157; Thr, Asn или Val в положении 159; Glu, Ile, Pro или Val в положении 160; алифатическую аминокислоту, Ser или Thr в положении 162; Ser, Asn, Arg или Thr в положении 163; Thr, His или Ser в положении 186; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 188; Glu или Arg в положении 189; Phe, His, Lys, Tyr или Trp в положении 194; Ser, Thr или Trp в положении 197; и Ser, Cys, Pro, Met или Trp в положении 199. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения ароматическая аминокислота в положении 157 представляет собой Туг, Phe или Тгр, а алифатическая аминокислота в положении 162 представляет собой Ala, Ile или Val.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu, Leu или Trp в положении 153; ароматическую аминокислоту в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; алифатическую аминокислоту или Ser в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; Phe, His, Туг или Trp в положении 194; Ser в положении 197; и Ser в положении 199. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения ароматическая аминокислота в положении 157 представляет собой Туг или Phe, а алифатическая аминокислота в положении 162 представляет собой Ala или Val.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный CH3-домен имеет последовательность SEQ ID NO: 556 или 559.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СНЗ-домен дополнительно содержит одну замену в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 186, 188, 189, 194, 197 и 199. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СНЗ-домен имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 563-574.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu, Leu или Trp в положении 153; Туг или Phe в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; Ala, Val или Ser в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; Phe в положении 194; Ser в положении 197; и Ser в положении 199. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет последовательность SEQ ID NO: 562.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 164, 186, 189 и 194; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu или Trp в положении 153; Val, Trp, Leu или Туг в положении 157; Leu, Pro, Phe, Thr или His в положении 159; Pro, Val или Glu в положении 160; Ala, Ser, Val или Gly в положении 162;

Leu, His, Gln, Gly, Val, Ala, Asn, Asp, Thr или Glu в положении 163; Thr, Phe, Gln, Val или Tyr в положении 164; Leu, Ser, Glu, Ala или Pro в положении 186; Glu, Asp, Thr или Asn в положении 189; и Trp, Tyr, Phe или His в положении 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu или Trp в положении 153; Trp, Leu или Tyr в положении 157; Thr или His в положении 159; Val в положении 160; Ala, Ser или Val в положении 162; Val, Asn или Thr в положении 163; Gln или Tyr в положении 164; Pro в положении 186; Thr или Asn в положении 189; и Trp, Tyr, Phe или His в положении 194. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет последовательность SEQ ID NO: 577 или 580.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, содержащие модифицированный СНЗ-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит четыре, пять, шесть, семь или восемь замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 114-220 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Gly в положении 210; Phe в положении 211; и/или Asp в положении 213. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 118, представляющего собой Phe или Ile; положения 119, представляющего собой Asp, Glu, Gly, Ala или Lys; положения 120, представляющего собой Туг, Met, Leu, Ile или Asp; положения 122, представляющего собой Thr или Ala; положения 210, представляющего собой Gly; положения 211, представляющего собой Phe; положения 212, представляющего собой His, Tyr, Ser или Phe; и положения 213, представляющего собой Asp. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 118, представляющего собой Phe или Ile; положения 119, представляющего собой Asp, Glu, Gly, Ala или Lys; положения 120, представляющего собой Туг, Met, Leu, Ile или Asp; положения 122, представляющего собой Thr или Ala; положения 210, представляющего собой Gly; положения 211, представляющего собой Phe; положения 212, представляющего собой His, Tyr, Ser или Phe; и положения 213, представляющего собой Asp. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по

меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 30-46. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 114-220 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит аминокислоты 118-122 и/или 210-213 любой из SEQ ID NO: 30-46. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Trp в положении 139 (Т139W) или (ii) Ser в положении 139 (Т139S), Ala в положении 141 (L141A) и Val в положении 180 (Y180V), при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Leu в положении 201 (M201L) и Ser в положении 207 (N207S) или (ii) Ser или Ala в положении 207 (N207S или N207A), при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения соответствующий немодифицированный СН3-домен представляет собой СН3-домен IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид присоединен к домену CH2 (например, к домену CH2 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН2-домен содержит один или оба из следующих наборов модификаций со ссылкой на аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1:(a) Ala в положении 7 и в положении 8 (L7A и L8A); и (b) Туг в положении 25 (M25Y), Thr в положении 27 (S27T), а также Glu в положении 29 (Т29Е). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения набор (a) дополнительно содержит Gly в положении 102 (P102G). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид дополнительно присоединен к Fab c помощью шарнирной области. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с тау-белком (например, тау-белком человека) или его фрагментом. Тау-белок может представлять собой фосфорилированный тау-белок, нефосфорилированный тау-белок, сплайсированную изоформу тау-белка, укороченный с N-конца тау-белок, укороченный с C-конца тау-белок и/или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с белком бета-секретазой 1 (ВАСЕ1) (например , белком ВАСЕ1 человека) или его фрагментом. Белок ВАСЕ1 может представлять собой сплайсизоформу белка ВАСЕ1 или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с тригерным рецептором,

экспрессированным на белке миелоидных клеток 2 (TREM2) (например, на белке TREM2 человека), или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с белком альфа-синуклеином (например, белком альфасинуклеином человека) или его фрагментом. Белок альфа-синуклеин может представлять собой мономерный альфа-синуклеин, олигомерный альфа-синуклеин, фибриллу альфасинуклеина, растворимый альфа-синуклеин и/или их фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид представляет собой первый полипептид димера, при этом указанный димер является одновалентным для связывания трансферринового рецептора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид представляет собой первый полипептид, который образует димер со вторым полипептидом, который связывается с трансферриновым рецептором и содержит модифицированный СН3-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СНЗ-домен второго полипептида такой же, как и модифицированный СН3-домен первого полипептида.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, содержащие модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный данного модифицированный CH2-домен содержит Glu в положении 60 и/или Trp в положении 61. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 47, представляющего собой Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр; положения 49, представляющего собой Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг; положения 56, представляющего собой Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe; положения 58, представляющего собой Arg, Ser, Ala или Gly; положения 59, представляющего собой Туг, Trp, Arg или Val; положения 60, представляющего собой Glu; положения 61, представляющего собой Тгр или Туг; положения 62, представляющего собой Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val или Asp; и положения 63, представляющего собой Leu, Trp, Arg, Asn, Tyr или Val. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит по меньшей мере, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять положений, выбранных из следующих положений: положения 47, представляющего собой Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр;

положения 49, представляющего собой Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг; положения 56, представляющего собой Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe; положения 58, представляющего собой Arg, Ser, Ala или Gly; положения 59, представляющего собой Туг, Trp, Arg или Val; положения 60, представляющего собой Glu; положения 61, представляющего собой Trp или Туг; положения 62, представляющего собой Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val или Asp; и положения 63, представляющего собой Leu, Trp, Arg, Asn, Tyr или Val. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный CH2-домен содержит Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn или Туг в положении 47; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг в положении 49; Asp, Pro, Met, Leu, Ala или Asn в положении 56; Arg, Ser или Ala в положении 58; Туг, Trp, Arg или Val в положении 59; Glu в положении 60; Trp в положении 61; Gln, Tyr, His, Ile, Phe или Val в положении 62; и/или Leu, Trp, Arg, Asn или Туг в положении 63.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Arg в положении 58; Туг или Trp в положении 59; Glu в положении 60; Trp в положении 61; и/или Arg или Trp в положении 63. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 47-62. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит аминокислоты 47-49 и/или 56-63 любой из SEQ ID NO: 47-62.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, содержащие модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Рго в положении 43, Glu в положении 68 и/или Туг в положении 70. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 39, представляющего собой

Pro, Phe, Ala, Met или Asp; положения 40, представляющего собой Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Туг; положения 41, представляющего собой Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu; положения 42, представляющего собой Pro, Val, Ala, Thr или Asp; положения 43, представляющего собой Pro, Val или Phe; положения 44, представляющего собой Trp, Gln, Thr или Glu; положения 68, представляющего собой Glu, Val, Thr, Leu или Trp; положения 70, представляющего собой Tyr, His, Val или Asp; положения 71, представляющего собой Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val; и положения 72, представляющего собой Туг, Asn, Asp, Ser или Pro. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять положений, выбранных из следующих положений: положения 39, представляющего собой Pro, Phe, Ala, Met или Asp; положения 40, представляющего собой Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Tyr; положения 41, представляющего собой Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu; положения 42, представляющего собой Pro, Val, Ala, Thr или Asp; положения 43, представляющего собой Pro, Val или Phe; положения 44, представляющего собой Trp, Gln, Thr или Glu; положения 68, представляющего собой Glu, Val, Thr, Leu или Trp; положения 70, представляющего собой Туг, His, Va или Asp; положения 71, представляющего собой Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val; и положения 72, представляющего собой Tyr, Asn, Asp, Ser или Рго.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Pro, Phe или Ala в положении 39; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala или Ile в положении 40; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe или Trp в положении 41; Pro, Val или Ala в положении 42; Pro в положении 43; Trp или Gln в положении 44; Glu в положении 68; Туг в положении 70; Thr, His или Gln в положении 71; и/или Туг, Asn, Asp или Ser в положении 72. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Met в положении 39; Leu или Glu в положении 40; Trp в положении 41; Pro в положении 42; Val в положении 43; Thr в положении 44; Val или Thr в положении 68; His в положении 70; His, Arg или Asn в положении 71; и/или Pro в положении 72. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Asp в положении 39; Asp в положении 40; Leu в положении 41; Thr в положении 42; Phe в положении 43; Gln в положении 44; Val или Leu в положении 68; Val в положении 70; Thr в положении 71; и/или Pro в положении 72.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей

мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 63-85. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный CH2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный CH2-домен содержит аминокислоты 39-44 и/или 68-72 любой из SEQ ID NO: 63-85.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, содержащие модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 41, представляющего собой Val или Asp; положения 42, представляющего собой Pro, Met или Asp; положения 43, представляющего собой Pro или Trp; положения 44, представляющего собой Arg, Trp, Glu или Thr; положения 45, представляющего собой Met, Туг или Trp; положения 65, представляющего собой Leu или Trp; положения 66, представляющего собой Thr, Val, Ile или Lys; положения 67, представляющего собой Ser, Lys, Ala или Leu; положения 69, представляющего собой His, Leu или Pro; и положения 73, представляющего собой Val или Тгр. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять положений, выбранных из следующих положений: положения 41, представляющего собой Val или Asp; положения 42, представляющего собой Pro, Met или Asp; положения 43, представляющего собой Pro или Trp; положения 44, представляющего собой Arg, Trp, Glu или Thr; положения 45, представляющего собой Met, Tyr или Trp; положения 65, представляющего собой Leu или Trp; положения 66, представляющего собой Thr, Val, Ile или Lys; положения 67, представляющего собой Ser, Lys, Ala или Leu; положения 69, представляющего собой His, Leu или Pro; и положения 73, представляющего собой Val или Trp.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Val в положении 41; Pro в положении 42; Pro в положении 43; Arg или Trp в положении 44; Met в положении 45; Leu в положении 65;

Thrт в положении 66; Ser в положении 67; His в положении 69; и/или Val в положении 73. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный CH2-домен содержит Asp в положении 41; Met или Asp в положении 42; Trp в положении 43; Glu или Thr в положении 44; Туг или Trp в положении 45; Trp в положении 65; Val, Ile или Lys в положении 66; Lys, Ala или Leu в положении 67; Leu или Pro в положении 69; и/или Trp в положении 73.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 86-90. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит аминокислоты 41-45 и/или 65-73 любой из SEQ ID NO: 86-90.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, содержащие модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Тгр в положении 103. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 45, представляющего собой Trp, Val, Ile или Ala; положения 47, представляющего собой Trp или Gly; положения 49, представляющего собой Tyr, Arg или Glu; положения 95, представляющего собой Ser, Arg или Gln; положения 97, представляющего собой Val, Ser или Phe; положения 99, представляющего собой Ile, Ser или Trp; положения 102, представляющего собой Trp, Thr, Ser, Arg или Asp; положения 103, представляющего собой Trp; и положения 104, представляющего собой Ser, Lys, Arg или Val. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит по меньшей мере, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять положений, выбранных из следующих положений: положения 45, представляющего собой Trp, Val, Ile или Ala; положения 47, представляющего собой Trp

или Gly; положения 49, представляющего собой Туг, Arg или Glu; положения 95, представляющего собой Ser, Arg или Gln; положения 97, представляющего собой Val, Ser или Phe; положения 99, представляющего собой Ile, Ser или Trp; положения 102, представляющего собой Trp, Thr, Ser, Arg или Asp; положения 103, представляющего собой Trp; и положения 104, представляющего собой Ser, Lys, Arg или Val.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит Val или Ile в положении 45; Gly в положени 47; Arg в положении 49; Arg в положении 95; Ser в положении 97; Ser в положении 99; Thr, Ser или Arg в положении 102; Trp в положении 103; и/или Lys или Arg в положении 104.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 91-95. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит аминокислоты 45-49 и/или 95-104 любой из SEQ ID NO: 91-95.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения соответствующий немодифицированный CH2-домен представляет собой CH2-домен IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен содержит один или оба из следующих наборов модификаций со ссылкой на аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1:(a) Ala в положении 7 и в положении 8 (L7A и L8A); и (b) Туг в положении 25 (M25Y), Thr в положении 27 (S27T), а также Glu в положении 29 (T29E). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения набор (a) дополнительно содержит Gly в положении 102 (P102G). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипентид присоединен к домену СНЗ.В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН3-домен содержит (i) Trp в положении 139 (T139W) или (ii) Ser в положении 139 (T139S), Ala в положении 141 (L141A) и Val в положении 180 (Y180V), при этом положения аминокислот определены со ссылкой на аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН3-домен содержит (i) Leu в положении 201 (M201L) и Ser в положении 207 (N207S) или (ii) Ser или Ala в положении 207 (N207S или N207A), при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых

вариантах осуществления данного изобретения полипептид дополнительно присоединен к Fab. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с таубелком (например, тау-белком человека) или его фрагментом. Тау-белок может представлять собой фосфорилированный тау-белок, нефосфорилированный тау-белок. сплайсированную изоформу тау-белка, укороченный с N-конца тау-белок, укороченный с С-конца тау-белок и/или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с белком бета-секретазой 1 (BACE1) (например, белком ВАСЕ1 человека) или его фрагментом. Белок ВАСЕ1 может представлять собой сплайсинговую изоформу белка ВАСЕ1 или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с тригерным рецептором, экспрессированным на белке миелоидных клеток 2 (TREM2) (например, на белке TREM2) человека), или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab связывается с белком альфа-синуклеином (например, белком альфасинуклеином человека) или его фрагментом. Белок альфа-синуклеин может представлять собой мономерный альфа-синуклеин, олигомерный альфа-синуклеин, фибриллу альфасинуклеина, растворимый альфа-синуклеин и/или их фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит модифицированный СН2-домен или модифицированный СН3-домен, который конкурирует за связывание с трансферриновым рецептором с любым из описанных в данном документе полипептидов, например,, любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299, 302 и 347-553. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит модифицированный СН2-домен или модифицированный СН3-домен, который связывается с тем же эпитопом на трансферриновом рецепторе, что и любой из описанных в данном документе полипептидов, например, ,любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299, 302 и 347-553.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид представляет собой первый полипептид димера, при этом указанный димер является одновалентным для связывания трансферринового рецептора . В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид представляет собой первый полипептид, который образует димер со вторым полипептидом, который связывается с трансферриновым рецептором и содержит модифицированный СН2-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН2-домен второго полипептида такой же, как и модифицированный СН2-домен первого полипептида.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, которые специфически

связываются с трансферриновым рецептором и содержат аминокислоты 157-194 или в некоторых вариантах осуществления - аминокислоты 153-194 или аминокислоты 153-199 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236 -299 и 422-435, аминокислоты 118-213 любой из SEQ ID NO: 30-46, аминокислоты 47-63 любой из SEQ ID NO: 47-62, аминокислоты 39-72 любой из SEQ ID NO: 63-85, аминокислоты 41-73 любой из SEQ ID NO: 86-90 или аминокислоты 45-104 любой из SEQ ID NO 91-95.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутацию "выступа" и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299. и 422-435, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа" и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 349, 361, 373, 385, 397, 409, 436, 448, 460 и 472, при этом мутация"выступа" представляет собой Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 349, 361, 373, 385, 397, 409, 436, 448, 460 и 472.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), что пронумерованосо ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 350, 362, 374, 386, 398, 410, 437, 449, 461 и 473, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO:

350, 362, 374, 386, 398, 410, 437, 449, 461 и 473.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 351, 363, 375, 387, 399, 411, 438, 450, 462 и 474, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 351, 363, 375, 387, 399, 411, 438, 450, 462 и 474.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутацию "выступа", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 352, 364, 376, 388, 400, 412, 439, 451, 463 и 475, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 352, 364, 376, 388, 400 и 412.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 485, 492, 499, 506, 513, 520, 527, 534, 541 и 548, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, а мутации, которые

повышают стабильность в сыворотке, представляют собой N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO:485, 492, 499, 506, 513, 520, 527, 534, 541 и 548.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 353, 365, 377, 389, 401, 413, 440, 452, 464 и 476, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 353, 365, 377, 389, 401, 413, 440, 452, 464 и 476.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 486, 493, 500, 507, 514, 521, 528, 535, 542 и 549, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют

собой N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 486, 493, 500, 507, 514, 521, 528, 535, 542 и 549.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 354, 366, 378, 390, 402, 414, 441, 453, 465 и 477, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 354, 366, 378, 390, 402, 414, 441, 453, 465 и 477.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 487, 494, 501, 508, 515, 522, 529, 536, 543 и 550, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 487, 494, 501, 508, 515, 522, 529, 536, 543 и 550.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутацию "отверстия" и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "отверстия" и последовательность, имеющую по меньшей

мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 355, 367, 379, 391, 403, 415, 442, 454, 466, и 478, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 355, 367, 379, 391, 403, 415, 442, 454, 466 и 478.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутацию "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 356, 368, 380, 392, 404, 416, 443, 455, 467 и 479, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 356, 368, 380, 392, 404, 416, 443, 455, 467 и 479.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 357, 369, 381, 393, 405, 417, 444, 456, 468 и 480, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 357, 369, 381, 393, 405, 417, 444, 456, 468 и 480.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутации "отверстия", мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке, и по

меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутации "отверстия", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 358, 370, 382, 394, 406, 418, 445, 457, 469, и 481, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 358, 370, 382, 394, 406, 418, 445, 457, 469 и 481.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутации "отверстия", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 488, 495, 502, 509, 516, 523, 530, 537, 544 и 551, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 488, 495, 502, 509, 516, 523, 530, 537, 544 и 551.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, имеющий мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и

L8A), а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой (i) M25Y, S27T и T29E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 359, 371, 383, 395, 407, 419, 446, 458, 470 и 482, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на 303-345 NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 359, 371, 383, 395, 407, 419, 446, 458, 470 и 482.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 489, 496, 503, 510, 517, 524, 531, 538, 545 и 552, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 489, 496, 503, 510, 517, 524, 531, 538, 545 и 552.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 360, 372, 384, 396, 408, 420, 447, 459, 471 и 483, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию,

представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 360, 372, 384, 396, 408, 420, 447, 459, 471 и 483.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит мутацию "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 490, 497, 504, 511, 518, 525, 532, 539, 546 и 553, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 490, 497, 504, 511, 518, 525, 532, 539, 546 и 553.

В другом аспекте предлагаются полипептиды, которые специфически связываются с трансферриновым рецептором , содержащие последовательность любой из SEQ ID NO: 116-233, 303-345 и 581-608.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются полипептиды, которые специфически связываются с трансферриновым рецептором, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 116-130 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131-139. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит первую последовательность любой из SEQ ID NO: 121, 116, 122, 123 или 126-130 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136, 137 и 139. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит первую последовательность любой из SEQ ID NO: 120 или 124-126 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 135, 138 и 139.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 117 и SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 118 и SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 119 и SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 120 и SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 121 и SEQ ID NO:

136, SEQ ID NO: 122 и SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 123 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 124 и SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 125 и SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 126 и SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 127 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 128 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 129 и SEQ ID NO: 136 или SEQ ID NO: 130 и SEQ ID NO: 136.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются полипептиды, которые специфически связываются с трансферриновым рецептором, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 304 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 305 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 307 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 308 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 309 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 310 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 311 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 313 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 314 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 315 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 319 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 320 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 321 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 322 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 323 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 325 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 326 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 327 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 329 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 331 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 332 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 335 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 336 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 337 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 338 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 339 и SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 344, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 343, или SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 345.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 581, 583, 585, 587, 589, 591 и 593, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 582,

884, 586, 588, 590, 592 и 594. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 581 и SEQ ID NO: 582, SEQ ID NO: 583 и SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 585 и SEQ ID NO: 586, SEQ ID NO: 587 и SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 589 и SEQ ID NO: 590, SEQ ID NO: 591 и SEQ ID NO: 592, или SEQ ID NO: 593 и SEQ ID NO: 594.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 554, 557 и 560, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 555, 558 и 561. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 558, или SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 561.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 554, 557 и 560, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 340-345, 582, 584, 586, 588, 590, 592 и 594. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 344, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 582, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 586, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 590, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 592, SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 594, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 344, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 582, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 586, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 590, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 592, SEQ ID NO: 557 и SEQ ID NO: 594, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 344, или SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 582, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 586, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 590, SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 592, или SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 594.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую

последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339, 581, 583, 585, 587, 589, 591 и 593, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 555, 558 и 561. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 304 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 304 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 304 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 305 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 305 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 305 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 307 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 307 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 307 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 308 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 308 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 308 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 309 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 309 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 309 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 310 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 310 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 310 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 311 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 311 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 311 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 313 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 313 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 313 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 314 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 314 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 314 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 315 и SEQ ID NO: 555 , SEQ ID NO: 315 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 315 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 319 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 319 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 319 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 320 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 320 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 320 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 321 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 321 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 321 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 322 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 322 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 322 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 323 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 323 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 323 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 325 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 325 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 325 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 326 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 326 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 326 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 327 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 327 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 327 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 329 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO:

329 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 329 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 331 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 331 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 331 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 332 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 332 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 332 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 335 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 335 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 335 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 336 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 336 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 336 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 337 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 337 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 337 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 338 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 338 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 338 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 339 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 339 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 339 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 581 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 581 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 581 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 583 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 583 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 583 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 585 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 585 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 585 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 587 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 587 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 587 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 589 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 589 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 589 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 591 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 591 и SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 591 и SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 593 и SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 593 и SEQ ID NO: 558, или SEQ ID NO: 593 и SEQ ID NO: 561.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 609-614 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615-620.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 303, 312, 315-318 и 328 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 135, 340 и 341. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 315, или SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 315, или SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 315, или SEQ ID

NO: 315 и SEQ ID NO: 341.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 595, 597, 599, 601, 603, 605 и 607, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 596, 598, 600, 602, 604, 606 и 608. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 595 и SEQ ID NO: 596, SEQ ID NO: 597 и SEQ ID NO: 598, SEQ ID NO: 599 и SEQ ID NO: 600, SEQ ID NO: 601 и SEQ ID NO: 602, SEQ ID NO: 603 и SEQ ID NO: 604, SEQ ID NO: 605 и SEQ ID NO: 606, или SEQ ID NO: 607 и SEQ ID NO: 608.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 575 и 578, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 576 и 579. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 575 и SEQ ID NO: 576 или SEQ ID NO: 578 и SEQ ID NO: 579.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 575 и 578, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345.

В другом аспекте данного изобретения предлагается полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 303 - 339, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 576 и 579.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются полипептиды, которые специфически связываются с трансферриновым рецептором, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 140-153 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-157.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 140 и SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 141 и SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 141 и SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 146 и SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 150 и SEQ ID NO:

156, SEQ ID NO: 151 и SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 152 и SEQ ID NO: 155, или SEQ ID NO: 153 и SEQ ID NO: 154.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются полипептиды, которые специфически связываются с трансферриновым рецептором, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 158-171 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 172-186. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 158 и SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 158 и SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 160 и SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 162 и SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 163 и SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 164 и SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 165 и SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 166 и SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 167 и SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 168 и SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 170 и SEQ ID NO: 174, или SEQ ID NO: 171 и SEQ ID NO: 186.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются специфически связывают полипептиды, которые трансферриновый рецептор, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 187-204 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 205-215. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 187 и SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 187 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 188 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 189 и SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 191 и SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 192 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 193 и SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 194 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 195 и SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 196 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 197 и SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 198 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 199 и SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 200 и SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 201 u SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 201 u SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 201 µ SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 202 µ SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203 µ SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 203 и SEQ ID NO: 214, или SEQ ID NO: 204 и SEQ ID NO: 215.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются полипептиды, которые специфически связывают трансферриновый рецептор, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 216-220 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 221-224. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 216 и SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 217 и SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 218 и SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 219 и SEQ ID NO: 223, или SEQ ID NO: 220 и SEQ

ID NO: 224.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются полипептиды, которые специфически связывают трансферриновый рецептор, содержащие первую последовательность любой из SEQ ID NO: 225-228 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 229-233. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит SEQ ID NO: 225 и 229, SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 227 и SEQ ID NO: 232, или SEQ ID NO: 228 и SEQ ID NO: 233.

В любом из приведенных выше вариантов осуществления данного изобретения указанный полипептид также может содержать замены Leu-на-Ala в положениях 7 и 8 (L7A и L8A). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные замены Ala в положениях 7 и 8 (L7A и L8A) находятся в комбинации с заменой Pro-на-Gly в положении 102 (P102G).

В еще одном аспекте предлагаются полинуклеотиды, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, как описано в данном документе.

В еще одном аспекте предлагаются векторы, содержащие полинуклеотид, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, как описано в данном документе.

В еще одном аспекте предлагаются клетки-хозяева, содержащие полинуклеотид, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, как описано в данном документе.

В еще одном аспекте предлагаются способы получения полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен или модифицированный СН2-домен, при этом указанные способы включают культивирование клетки-хозяина в условиях, в которых экспрессируется полипептид, кодируемый полинуклеотидом, описанным в данном документе.

В другом аспекте предлагаются фармацевтические композиции, содержащие полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, как описано в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

В еще одном аспекте предлагаются способы трансцитоза композиции через

эндотелий, при этом указанные способы включают приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения эндотелий представляет собой гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

В еще одном аспекте предлагаются способы конструирования СН3-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанные способы включают:

- а. (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН3-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя:
 - (i) 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194; или
 - (ii) 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213,
- b. при этом указанные замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1;
- с. (b) экспрессию полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен; а также
- d. (c) определение того, связывается ли модифицированный СН3-домен с трансферриновым рецептором.

В другом аспекте данного документа предлогается способ конструирования СН3домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указаный способ включает (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН3домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в домене СН3, как изложено в любом из предыдущих параграфов, в которых описаны замены СН3-домена; и (b) экспрессию и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные этапы экспрессии полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен, и определения того, связывается ли модифицированный СН3-домен с трансферриновым рецептором, проводят с помощью дисплейной системы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная дисплейная система представляет собой дисплейную систему клеточной поверхности, вирусную дисплейную систему, дисплейную систему мРНК, полисомную дисплейную систему или рибосомную дисплейную систему. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, экспрессируется в виде растворимого белка.

В другом аспекте предлагаются способы конструирования СН2-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанные способы включают:

- а. (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в наборе аминокислотных положений, включающем:
 - (i) 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63;
 - (іі) 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72;
 - (ііі) 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73; или
 - (iv) 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104;
- b. при этом указанные замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1;
- с. (b) экспрессию полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен; а также
- d. (c) определение того, связывается ли модифицированный СН2-домен с трансферриновым рецептором.

В другом аспекте данного изобретения предлагается способ конструирования СН2-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанный способ включает (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в домене СН2, как изложено в любом из предыдущих параграфов, в которых описаны замены СН2-домена; и (b) экспрессию и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные этапы экспрессии полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен, и определения того, связывается ли модифицированный СН2-домен с трансферриновым рецептором, проводят с помощью дисплейной системы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная дисплейная система представляет собой дисплейную систему клеточной поверхности, вирусную дисплейную систему, дисплейную систему мРНК, полисомную дисплейную систему или рибосомную дисплейную систему. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен, экспрессируется в виде растворимого белка.

В другом аспекте данного изобретения предлагается способ усиления связывания модифицированного полипептида Fc, который содержит ненативный сайт связывания с мишенью (*например*, трансферриновым рецептором), при этом указанный способ включает:(а) введение одной или большего количества замен в одном или большем

количестве положений в пределах 10 Å (*например*, в пределах 9 Å, 8 Å, 7 Å, 6 Å, 5 Å, 4 Å, 3 Å, 2 Å или 1 Å) ненативного сайта связывания; и (b) анализ модифицированного Fc полипептида на предмет связывания с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения ненативный сайт связывания содержит замены в одном или большем количестве из следующих положений:157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения одну или большее количество замен в одном или большем количестве положений в пределах 10 Å от ненативного сайта связывания выбирают из группы, состоящей из K21, R28, Q115, R117, E118, Q120, T132, K133, N134, Q135, S137, K143, E153, E155, S156, G158, Y164, K165, T166, D172, S173, D174, S176, K182, L183, T184, V185, K187, S188, Q191, Q192, G193, V195, F196, S197, S199, Q211, S213, S215, L216, S217, P218, G219 и K220, со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

Краткое описание графических материалов

На Фиг. 1A - 1D продемонстрированы результаты фагового ИФА для четырех клонов CH2A2.Fc-варианты CH2A2 экспрессировали на поверхности фага и тестировали на связывание с анти-с-Мус антителом 9E10 (контроль экспрессии), отрицательным контролем, трансферриновым рецептором человека (TfR) и TfR яванского макака (супо), нанесенными на планшет. Ось X демонстрирует показатель OD₂₆₈ раствора фага, который является мерой концентрации фага. На Фиг. 1A продемонстрированы результаты фагового ИФА для клона CH2A2.5. На Фиг. 1B продемонстрированы результаты фагового ИФА для клона CH2A2.1. На Фиг. 1C продемонстрированы результаты фагового ИФА для клона CH2A2.4. На Фиг. 1D продемонстрированы результаты фагового ИФА для клона CH2A2.16.

На Фиг. 2A и 2B продемонстрированы результаты фагового ИФА для клонов СН2A2, связывающихся с TfR человека. Фаг добавляли на планшеты для ИФА с покрытием TfR при приблизительном значении связывании EC₅₀, и добавляли растворимый holo-Tf или растворимый TfR в различных концентрациях. Данные демонстрируют, что клоны CH2A2 конкурируют с растворимым TfR за связывание с TfR, нанесенным на планшет, но не конкурируют с holo-Tf. На Фиг. 2A продемонстрированы результаты для экспериментов, в которых добавляли растворимый holo-Tf . На Фиг. 2B продемонстрированы результаты для экспериментов, в которых добавляли растворимый TfR.

На Фиг. 3A - 3D продемонстрировано связывание клонов CH2C с TfR в присутствии или в отсутствие holo-Tf. На Фиг. 3A продемонстрированы результаты

фагового ИФА, в котором ТfR наносили на планшет для ИФА, а клон CH2C.23, отображенный на фаге, добавляли в присутствии или в отсутствие большого избытка holo-Tf (5 мкМ). На Фиг. 3В продемонстрированы клоны CH2C, в формате слияния Fc-Fab, связывающиеся с планшетами для ИФА, покрытыми TfR человека или яванского макака. На Фиг. 3С продемонстрированы результаты фагового ИФА, в которых TfR человека, TfR яванского макака, holo-Tf, анти-Мус или стрептавидин наносили на планшет для ИФА, и клоны CH2C.17 и CH2C.22, отображенные на фаге, добавляли в различных разведениях в присутствии или в отсутствие holo-Tf. Эти данные демонстрируют, что эти клоны не конкурируют с holo-Tf за связывание с TfR. На Фиг. 3D продемонстрированы кривые кинетики в анализе Octet® (то есть биослойная интерферометрия) для клона CH2C.7, связывающегося с TfR-биотином, нанесенным на антистрептавидиновый сенсор, в присутствии 5 мкМ holo-Tf и фона, вычтенного для связывания только holo-Tf, указывая на отсутствие конкуренции за связывание с Tf.

На Фиг. 4A и 4B продемонстрировано связывание клонов CH3B с TfR в присутствии или в отсутствие holo-Tf. На Фиг. 4A продемонстрированы результаты фагового ИФА, в которых TfR человека, TfR яванского макака, holo-Tf, анти-Мус или стрептавидин наносили на планшет для ИФА, и клоны CH3B.11 и CH3B.12, отображенные на фаге, добавляли в различных разведениях в присутствии или в отсутствие holo-Tf. Эти данные демонстрируют, что эти клоны не конкурируют с holo-Tf за связывание с TfR. На Фиг. 4В продемонстрированы клоны CH3B, связывающиеся с планшетами для ИФА, покрытыми TfR человека или яванского макака. Fc области, содержащие последовательности клона CH3B, были слиты с Fab фрагментами и проанализированы в формате димера.

На Фиг. 5 продемонстрированы библиотеки участков NNK для созревания клонов СН3В. Ленты демонстрируют каркас домена СН3, где темные поверхности представляют исходные регистры СН3В, а участки светлых поверхностей представляют расширенный репертуар.

На Фиг. 6 продемонстрированы графики FACS для селекционных клонов CH3C на дрожжах, показывающие обогащение связывающей популяции после 3 циклов сортировки. В циклах сортировки 1 и 2 биотинилированный TfR предварительно загружали на стрептавидин-Alexa Fluor[®] 647 до инкубации с дрожжами. В цикле сортировки 3 биотинилированный TfR сначала инкубировали с дрожжами, и добавляли стрептавидин-Alexa Fluor[®] 647 для вторичного обнаружения. Во всех циклах сортировки экспрессию контролировали с применением куриного антитела анти-с-Мус (полученного от Thermo Fisher) против С-концевой Мус-метки на конструкции дрожжевого дисплея.

На Фиг. 7А - 7С продемонстрировано связывание клонов CH3C с TfR в присутствии или в отсутствие holo-Tf. Клоны анализировали в формате слияния Fc-Fab. Ab204, стандартное антитело с вариабельными областями, которые связываются с TfR, применяли в качестве положительного контроля в этом анализе. На Фиг. 7А продемонстрировано связывание вариантов CH3C с TfR человека, нанесенным на планшеты для ИФА. На Фиг. 7В продемонстрировано связывание вариантов CH3C с TfR человека, нанесенным на планшеты для ИФА в присутствии 5 мкМ holo-Tf. На Фиг. 7С продемонстрировано связывание вариантов CH3C с TfR яванского макака, нанесенным на планшеты для ИФА.

На Фиг. 8 продемонстрировано связывание клонов СНЗС с клетками 293F, которые эндогенно экспрессируют TfR человека. Клетки распределяли в 96-луночных планшетах с V-подобным дном лунок и добавляли различные концентрации клонов СНЗС, в формате связывающих слитых белков Fc-Fab. После 1 часа инкубации при 4 °C планшеты вращали и промывали, а затем инкубировали с козьим вторичным антителом против IgG человека Alexa Fluor[®] 647 при 4 °C в течение 30 минут. После дополнительной промывки клеток планшеты считывали на проточном цитометре FACSCanto[™] II и определяли средние значения флуоресценции в канале APC (647 нм) с помощью программного обеспечения FlowJo[®].

На Фиг. 9А и 9В продемонстрирована интернализация СН3С.3 в клетках НЕК293, которые эндогенно экспрессируют TfR человека. СН3С.3 или контроли добавляли при концентрации 1 мкМ при 37 ° С и концентрации 8% СО₂ в течение 30 минут, затем клетки промывали, пермеабилизировали и окрашивали вторичным антителом против IgG человека Alexa Fluor [®] 488. После дополнительной промывки клетки визуализировали с помощью флуоресцентной микроскопии и количественно определяли количество точек. На Фиг. 9А продемонстрированы данные микроскопии. На Фиг. 9В продемонстрирован график количества точек на лунку.

На Фиг. 10 продемонстрирован схема отбора для гибкой библиотеки СН3С.Исходная библиотека была отсортирована с помощью MACS по отношению либо к TfR человека (H), либо яванского макака (C). Полученные дрожжевые пулы затем расщепляли и каждый сортировали по отношению либо к TfR человека, либо яванского макака, как в первом цикле сортировки FACS. Полученные пулы снова расщепляли для другого цикла сортировки FACS. Наконец, пулы ННН и ССС разделяли, а остальные пулы, которые контактировали с обеими видами мишеней в конечном итоге объединяли.

На Фиг. 11A и 11B продемонстрировано связывание клонов СН3С, идентифицированных из первой библиотеки гибкой рандомизации, с TfR человека и

яванского макака. Положительными контролями были Ab204, антитело против TfR с высокой аффинностью, а также Ab084, антитело против TfR с низкой аффинностью. На Фиг. 11A продемонстрировано связывание с TfR человека. На Фиг. 11B продемонстрировано связывание с TfR яванского макака.

На Фиг. 12A и 12B продемонстрировано связывание клонов СН3С, идентифицированных из первой библиотеки гибкой рандомизации, с TfR человека в присутствии или в отсутствие holo-Tf. Клоны были в формате слияния Fc-Fab. В этом анализе в качестве положительного контроля применяли Ab204, антитело против TfR с высокой аффинностью. На Фиг. 12A продемонстрировано связывание вариантов СН3С с TfR человека, нанесенным на планшеты для ИФА. На Фиг. 12B продемонстрировано связывание вариантов СН3С с TfR человека, нанесенным на планшеты для ИФА, в присутствии 5 мкМ holo-Tf.

На Фиг. 13 продемонстрировано связывание клонов СН3С, идентифицированных из первой библиотеки гибкой рандомизации, с клетками 293F. Клетки распределяли в 96-луночных планшетах с V-подобным дном лунок и добавляли различные концентрации клонов СН3С, в формате слитых белков Fc-Fab. После 1 часа инкубации при 4 °C планшеты вращали и промывали, а затем инкубировали с козьим вторичным антителом против IgG человека Alexa Fluor $^{\text{®}}$ 647 при 4 °C в течение 30 минут. После дополнительной промывки клеток планшеты считывали на проточном цитометре FACSCanto $^{\text{тм}}$ II и определяли средние значения флуоресценции в канале APC (647 нм) с помощью программного обеспечения FlowJo $^{\text{©}}$.

Ha 14A-14C продемонстрировано Φ иг. связывание клонов CH3C. идентифицированных из первой библиотеки гибкой рандомизации, с клетками СНО-К1. Клетки распределяли в 96-луночных планшетах с V-подобным дном лунок и добавляли различные концентрации клонов СНЗС, в формате слитых белков Fc-Fab. После 1 часа инкубации при 4°C планшеты вращали и промывали, а затем инкубировали с козьим вторичным антителом против IgG человека Alexa Fluor [®] 647 при 4 °C в течение 30 минут. После дополнительной промывки клеток планшеты считывали на проточном цитометре FACSCanto[™] II и определяли средние значения флуоресценции в канале APC (647 нм) с помощью программного обеспечения FlowJo®. На Фиг. 14A продемонстрированы клетки СНО-К1, которые сверхэкспрессируют TfR человека. На Фиг. 14В продемонстрированы клетки CHO-K1, которые сверхэкспрессируют TfR яванского макака. На Фиг. 14C продемонстрированы родительские клетки СНО-К1, которые не экспрессируют TfR человека.

На Фиг. 15A и 15B продемонстрирован апикальный домен TfR. На Фиг. 15A

продемонстрировано расположение апикального домена на белке TfR человека. На вставке продемонстрировано изображение семи остатков, которые различаются между TfR человека и яванского макака. На Фиг. 15В продемонстрировано выравнивание последовательностей, содержащее семь остатков, которые различаются между TfR человека (SEQ ID NO: 107) и яванского макака (SEQ ID NO: 108). Консенсусная последовательность представляет собой SEQ ID NO: 622.

На Фиг. 16А - 16Е продемонстрировано связывание клонов СНЗС с апикальным доменом, отображенным на фаге. На Фиг. 16А продемонстрирована экспрессия Мус различных мутантов апикального домена ТfR, демонстрирующая, что уровень экспрессии мутантов был сходным и нормализованным. На Фиг. 16В продемонстрировано связывание СНЗС.18 с апикальными доменами TfR дикого и мутантного типа человека, демонстрирующее пониженное связывание с мутантом R208G. На Фиг. 16С продемонстрировано связывание СНЗС.35 с апикальными доменами TfR дикого и мутантного типа человека, демонстрирующее пониженное связывание с мутантом R208G. На Фиг. 16D продемонстрировано связывание СНЗС.18 с апикальными доменами TfR дикого типа человека и яванского макака, и апикальным доменом мутанта G208R яванского макака, демонстрирующее восстановление связывания с мутантом. На Фиг. 16Е продемонстрировано связывание СНЗС.35 с апикальными доменами TfR дикого типа человека и яванского макака, и апикальными доменами TfR дикого типа человека и яванского макака, и апикальными доменами TfR дикого типа человека и яванского макака, и апикальным доменом мутанта G208R яванского макака, демонстрирующее восстановление связывания с мутантом.

На Фиг. 17А - 17D продемонстрировано паратопное картирование вариантов СН3С путем обращения мутированных положений к остаткам дикого типа. На Фиг. 17А продемонстрировано паратопное картирование СН3С.35 в ИФА связывания с TfR человека для обращенных мутантов. На Фиг. 17В продемонстрировано паратопное картирование СН3С.35 в ИФА связывания с TfR яванского макака для обращенных мутантов. На Фиг. 17С продемонстрировано паратопное картирование СН3С.18 в ИФА связывания с TfR человека для обращенных мутантов. На Фиг. 17D продемонстрировано паратопное картирование СН3С.18 в ИФА связывания с TfR яванского макака для обращенных мутантов.

На Фиг. 18А - 18D продемонстрирована схема консенсусных библиотек созревания СН3С.На Фиг. 18А продемонстрирована консенсусная библиотека, основанная на СН3С.35-подобных последовательностях. На Фиг. 18В продемонстрирована консенсусная библиотека, основанная на СН3С.18-подобных последовательностях. На Фиг. 18С продемонстрирована библиотека гэпов, основанная на СН3С.18 и СН3С.35.На Фиг. 18D продемонстрирована библиотека ароматических соединений, основанная на

CH3C.18.

На Фиг. 19А - 19Е продемонстрировано ИФА-связывание вариантов СНЗС из консенсусных библиотек созревания с TfR человека или яванского макака. Новые варианты (то есть CH3C.3.2-1, CH3C.3.2-5, и CH3C.3.2-19) имели сходные показатели связывания EC₅₀ с TfR яванского макака и человека, тогда как родительские клоны CH3C.18 и CH3C.35 имели значительно лучшие показатели связывания EC₅₀ для TfR человека по сравнению с TfR яванского макака. На Фиг. 19А продемонстрированы данные для CH3C.3.2-1. На Фиг. 19В продемонстрированы данные для CH3C.3.2-19. На Фиг. 19С продемонстрированы данные для CH3C.3.2-5. На Фиг. 19D продемонстрированы данные для CH3C.3.5.

На Фиг. 20 продемонстрирована интернализация вариантов СНЗС из консенсусных библиотек созревания в клетках человека (НЕК293) и обезьяны (LLC-MK2). Клоны СН3С.3.2-5 и СН3С3.2-19, которые имели сходные показатели аффинности с TfR человека и яванского макака, характеризовались значительно лучшими показателями поглощения в клетках обезьяны по сравнению с клоном СН3С.35, который лучше связывался с TfR человека. Аb107, антитело против BACE1, применяли в качестве отрицательного контроля. (BACE1 не экспрессируется на клетках НЕК293 или МК2). Ab204, антитело против TfR, применяли в качестве положительного контроля.

На Фиг. 21 продемонстрирована карта остатков дорожек NNK, изображенных на структуре CH3 (адаптировано из PDB 4W4O). Черные поверхности показывают исходный регистр CH3C, серые поверхности показывают 44 остатка, включенных в структуру дорожек NNK, а ленты показывают остов дикого типа.

На Фиг. 22 продемонстрирован обогащенные дрожжевые популяции после трех циклов сортировки библиотеки дорожек NNK. Дрожжи окрашивали с применением антис-Мус для мониторинга экспрессии (ось х) и связывания с апикальным доменом TfR (200 нМ яванского макака или 200 нМ человека) (ось у). Представленные в данном документе данные четко демонстрируют усиленное связывание с обеими ортологами апикального домена TfR.

На Фиг. 23A и 23B продемонстрированы данные FACS для мутантов CH3C.35.21. Дрожжи окрашивали с применением анти-с-Мус для мониторинга экспрессии (ось х) и связывания с апикальным доменом TfR человека (200 нМ) (ось у). На Фиг. 23A продемонстрированы данные FACS для клона CH3C.35.21. На Фиг. 23B продемонстрированы данные FACS для мутантов, в которых 11 положений из клона CH3C.35.21 были мутированы обратно в дикий тип (верхний ряд графиков FACS) или экспрессированы в виде библиотеки NNK всех 20 аминокислот (нижний ряд графиков

FACS, до любой сортировки).

На Фиг. 24A - 24D продемонстрировано ИФА-сравнение связывания двухвалентного и одновалентного полипептида СН3С с TfR человека и яванского макака. На Фиг. 24A продемонстрировано связывание двухвалентного полипептида СН3С с TfR человека. На Фиг. 24B продемонстрировано связывание двухвалентного полипептида СН3С с TfR яванского макака. На Фиг. 24C продемонстрировано связывание одновалентного полипептида СН3С с TfR человека. На Фиг. 24D продемонстрировано связывание одновалентного полипептида СН3С с TfR яванского макака.

На Фиг. 25А - 25Е продемонстрировано клеточное связывание одновалентных полипептидов СНЗС. На Фиг. 25А продемонстрированы клетки 293F. На Фиг. 25В продемонстрировано детализированное изображение связывания с клетками 293F, изображенными на Фиг. 25А. На Фиг. 25С продемонстрированы клетки СНО-К1, стабильно трансфицированные TfR человека. На Фиг. 25D продемонстрировано детализированное изображение связывания с клетками СНО-К1, стабильно трансфицированными TfR человека и изображенными на Фиг. 25С. На Фиг. 25Е продемонстрированы клетки СНО-К1, стабильно трансфицированные TfR яванского макака.

На Фиг. 26 продемонстрирована интернализация одновалентных и двухвалентных полипептидов CH3C в клетках HEK293.

На Фиг. 27А - 27Н продемонстрирована кинетика связывания для полипептидов CH3C. Фиг. 27A продемонстрированы данные относительно СН3С.35.N163 с TfR человека. На Фиг. 27В продемонстрированы данные относительно с TfR человека. На Фиг. 27С продемонстрированы данные связывания СНС3.35 относительно одновалентного связывания CHC3.35. N163 с TfR человека. На Фиг. 27D продемонстрированы данные относительно одновалентного связывания CHC3.35 с TfR человека. На Фиг. 27Е продемонстрированы данные относительно связывания СН3С.35.N163 с TfR яванского макака. На Фиг. 27F продемонстрированы данные СНС3.35 с TfR яванского макака. относительно связывания продемонстрированы данные относительно одновалентного связывания CHC3.35. N163 с TfR яванского макака. На Фиг. 27H продемонстрированы данные относительно одновалентного связывания CHC3.35 с TfR яванского макака.

На Фиг. 28A - 28F продемонстрирована кинетика связывания для полипептидов СН3С. На Фиг. 28A продемонстрированы данные относительно связывания СН3С.3.2-1 с TfR человека. На Фиг. 28B продемонстрированы данные относительно связывания СН3С.3.2-5 с TfR человека. На Фиг. 28C продемонстрированы данные относительно

связывания CH3C.3.2-19 с TfR человека. На Фиг. 28D продемонстрированы данные относительно связывания CH3C.3.2-1 с TfR яванского макака. На Фиг. 28E продемонстрированы данные относительно связывания CH3C.3.2-5 с TfR яванского макака. На Фиг. 28F продемонстрированы данные относительно связывания CH3C.3.2-19 с TfR яванского макака.

На Фиг. 29А - 29Е продемонстрировано связывание слияний "полипептид-Fab" с FcRn при рН 5,5 в присутствии (нижние дорожки) или в отсутствие (верхние дорожки) внеклеточного домена TfR человека. На Фиг. 29А продемонстрированы данные для клона CH3C.35.На Фиг. 29В продемонстрированы данные для клона CH3C.35.19. На Фиг. 29С продемонстрированы данные для клона CH3C.35.20. На Фиг. 29D продемонстрированы данные для клона CH3C.35.21.На Фиг. 29Е продемонстрированы данные для клона CH3C.35.24.

На Фиг. 30 продемонстрирован фармакокинетический (ФК) анализ полипептидов СНЗС у мышей дикого типа. Все слияния полипептид-Fab обладали сравнимым клиренсом со слияниями Fc-Fab дикого типа (*то есть* Ab122, антитело против RSV, и Ab153 (антитело против BACE1), за исключением клона CH3C.3.2-5, который имел более быстрый клиренс.

На Фиг. 31 продемонстрированы данные фармакокинетики/фармакодинамики (ФК/ФД) в ткани головного мозга мыши. Химерным гетерозиготным мышам huTfR (n = 4/в группе) внутривенно вводили 42 мг/кг либо Ab153, либо одновалентного CH3C.35.N163 (обозначенного как "CH3C.35.N163_mono"), а мышам дикого типа (n = 3) внутривенно вводили 50 мг/кг контрольного IgG1 человека (обозначенного как "huIgG1"). Гистограммы представляют среднее +/- CO.

На Фиг. 32A и 32B продемонстрирована концентрация IgG, обнаруженная у $hTfR^{apical+/+}$ через 24 часа после обработки полипептидами, в дозе 50 мг/кг. На Фиг. 32A продемонстрирована концентрацию IgG в плазме. На Фиг. 32B продемонстрирована концентрация IgG в ткани головного мозга.

На Фиг. 33A и 33B продемонстрировано целевое вовлечение полипептидов, вводимых hTfR^{арісаl+/+} мышам через 24 часа, что измерено по уменьшению амилоидного бета-белка 40 (Abeta 40). На Фиг. 33A продемонстрированы концентрации Abeta 40 в плазме. На Фиг. 33B продемонстрированы концентрации Abeta 40 в ткани головного мозга.

На Фиг. 34 продемонстрированы результаты ДСН-ПААГ-электрофореза с разделением по фракциям комплекса CH3C.18 Fc и апикального домена TfR (AD). Дорожка 1:Маркер молекулярного весаДорожка 2:Уменьшенный комплекс CH3C.18 Fc-

AD после эксклюзионной хроматографии по размеру.

На Фиг. 35A и 35B изображено связывание между полипептидами по данному изобретению и трансферриновым рецептором. На Фиг. 35A изображена поверхность связывания между клоном CH3C.18 и апикальным доменом трансферринового рецептора. На Фиг. 35B продемонстрировано увеличенное изображение поверхности связывания, проиллюстрированной на Фиг. 35A.

На Фиг. 36А и 36В изображены взаимодействия между СН3С.18 и апикальным доменом TfR. На Фиг. 36A изображена структурная архитектура (вверху) апикального домена TfR и CH3C.18 Fc, а также поверхности связывания (в пределах 5 ангстрем) (внизу) апикального домена TfR и CH3C.18 Fc. Сложная структура была определена при разрешении 3,6 Å. Указанная структура демонстрирует эпитоп на апикальном домене TfR, связанном с СН3С.18.В частности, N-концевая область апикального домена участвует в связывании СН3С Fc, и эта структура согласуется с данными мутагенеза апикального домена TfR и CH3C.18 Fc. Кроме того, все боковые цепи библиотеки CH3C.18 контактируют с TfR (в пределах 5Å). Остатки библиотеки CH3C.18:L157, H159, V160, W161, A162, V163, P186, T189 и W194. Остатки не из библиотеки:F196 и S156. На Фиг. 36В изображены ключевые взаимодействия апикального домена TfR и CH3C.18 Fc. Катион-пи взаимодействие между W161 на CH3C.18 Fc и R208 на апикальном домене является центральным связывающим взаимодействием. Мутация либо CH3C.18 W388, либо апикального домена R208 нарушает связывание CH3C.18 Fc и апикального домена. В соответствии с этим, мутация R208G от человека к яванскому макаку объясняет снижение аффинности у яванского макака. Кроме того, неконсервативные остатки в апикальном домене человека (N292 и E294 (K292 и D294 у яванского макака)) находятся поблизости. Следовательно, Q192 в СН3С.18 может быть мутирован для селективного улучшения связывания у яванского макака по сравнению с человеком.

На Фиг. 37А и 37В изображено связывание между полипептидами по данному изобретению и трансферриновым рецептором. На Фиг. 37А и 35В изображены водородные связи и несвязанные контакты между остатками в клоне CH3C.18 (цепь A) и апикальным доменом трансферринового рецептора (цепь D). На Фиг. 37В изображены водородные связи и несвязанные контакты между остатками в клоне CH3C.18 (цепь B) и апикальным доменом трансферринового рецептора (цепь C).

На Фиг. 38 продемонстрировано выравнивание аминокислотных последовательностей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека (SEQ ID NO: 623 - 626).

На Фиг. 39A - 39C изображено связывание между полипептидами по данному изобретению и трансферриновым рецептором. На Фиг. 39A изображена структурная

архитектура (вверху) апикального домена TfR и CH3C.35 Fc, а также поверхности связывания (в пределах 5 Å) (внизу) апикального домена TfR и CH3C.35 Fc. Сложная структура была определена при разрешении 3,4 Å. Указанная структура демонстрирует эпитоп на апикальном домене TfR, связанном с CH3C.35.Все боковые цепи библиотеки CH3C.35 контактируют с TfR (в пределах 5Å). Остатки библиотеки CH3C.35:Y157, T159, E160, W161, S162, T186, E189 и W194. Остатки не из библиотеки:F196, S156, Q192. На Фиг. 39В и 39С продемонстрированы увеличенные изображения поверхность связывания между клоном CH3C.35 и апикальным доменом трансферринового рецептора, проиллюстрированная на Фиг. 39А.

На Фиг. 40A изображена наложенная структура между комплексом CH3C.35 Fc и TfR-AD и комплексом CH3C.18 Fc и TfR-AD.

На Фиг. 40B продемонстрировано увеличенное изображение наложенной структуры, проиллюстрированной на Фиг. 40A.

На Фиг. 41A и 41B изображено связывание между полипептидами по данному изобретению и трансферриновым рецептором. На Фиг. 41A изображены водородные связи и несвязанные контакты между остатками в клоне CH3C.35 (цепь A) и апикальным доменом трансферринового рецептора (цепь D). На Фиг. 41B изображены водородные связи и несвязанные контакты между остатками в клоне CH3C.35 (цепь B) и апикальным доменом трансферринового рецептора (цепь C).

На Фиг. 42A и 42B изображена ФК и снижение уровня Аβ40 в плазме при применении слитого полипептида Fc-Fab, содержащего вариант CH3C, слитый с Ab153 Fab доменом, у яванского макака. На Фиг. 42A изображено, что Ab210 и CH3C.35.9: Ab153 демонстрировали более быстрый клиренс из-за опосредованного TfR клиренса по сравнению с контрольными IgG (Ab122) и Ab153. На Фиг. 42B изображено, что Ab153, Ab210 и CH3C.35.9: Ab153, которые все связываются и ингибируют BACE1, демонстрируют значительное снижение Aβ40 в плазме.

На Фиг. 43A и 43B изображено значительное снижение уровня Аβ и sAPPβ/sAPPα в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) при применении слитого полипептида Fc-Fab, содержащего вариант CH3C, слитый с Ab153 Fab доменом, у яванского макака. На Фиг. 43A изображено, что животные, которым вводили Ab210 и CH3C.35.9: Ab153, продемонстрировали примерно 70% снижение Aβ40 в ЦСЖ по сравнению с Ab153 и контрольным IgG (Ab122). На Фиг. 43B изображено, что животные, которым вводили Ab210 и CH3C.35.9: Ab153, продемонстрировали примерно 75% снижение соотношения sAPPβ/sAPPα по сравнению с Ab153 и контрольным IgG (Ab122). n = 4/на группу. Линейные графики представляют собой среднее ± COC.

На Фиг. 44A и 44B изображены концентрации huIgG1 в плазме (Фиг. 44A) и лизатах головного мозга (Фиг. 44B) мышей с нокином hTfRapical^{+/+} (KI) после однократного системного введения 50 мг/кг слитого полипептида анти-BACE1_Ab153, CH3C35. 21: Ab153, CH3C35. 20: Ab153 или CH3C35: Ab153 (среднее значение \pm COC, n = 5 на группу).

На Фиг. 44С изображена концентрация эндогенного мышиного $A\beta$ в лизате головного мозга мышей hTfRapical^{+/+} KI после однократного системного введения 50 мг/кг слитого полипептида анти-BACE1_Ab153, CH3C35. 21: Ab153, CH3C35. 20: Ab153 или CH3C35:Ab153 (среднее \pm COC, n=5 на группу).

На Фиг. 44D изображены результаты анализа вестерн-блоттинга для количественного определения белка TfR головного мозга, нормализованного к актину в лизате головного мозга мышей hTfRapical^{+/+} KI после однократного системного введения 50 мг/кг слитого полипептида анти-BACE1_Ab153, CH3C35. 21:Ab153, CH3C35. 20:Ab153 илм CH3C35:Ab153 (среднее значение \pm COC, n = 5 на группу).

На Фиг. 45A и 45B изображены концентрации huIgG1 в плазме (Фиг. 45A) и лизатах головного мозга (Фиг. 45B) мышей hTfR $^{apical+/+}$ KI после однократного системного введения 50 мг/кг слитого полипептида анти-BACE1_Ab153, CH3C.35.23:Ab153 или CH3C.35.23.3:Ab153 (среднее значение \pm COC, n = 5 на группу).

На Фиг. 45С изображена концентрация эндогенного мышиного $A\beta$ в лизате головного мозга мышей $hTfR^{apical+/+}$ KI после однократного системного введения 50 мг/кг слитого полипептида анти-BACE1_Ab153, CH3C.35.23:Ab153 или CH3C.35.23.3:Ab153 (среднее \pm COC, n=5 на группу).

На Фиг. 45D изображены результаты анализа вестерн-блоттинга для количественного определения белка TfR головного мозга, нормализованного к актину в лизате головного мозга мышей hTfR $^{apical+/+}$ KI после однократного системного введения 50 мг/кг слитого полипептида анти-BACE1_Ab153, CH3C.35.23:Ab153 или CH3C.35.23:Ab153 (среднее значение \pm COC, n=4 на группу).

На Фиг. 46A - 46D изображено 28-дневное исследование ФК/ФД у яванского макака после однократной дозы 30 мг/кг указанных белков. На Фиг. 46A и 46B изображены концентрации сывороточного huIgG1 в сыворотке и плазменного $A\beta$ в плазме с демонстрацией периферического воздействия вводимых соединений и полученное влияние на уровни $A\beta$ в плазме с течением времени. На Фиг. 46C и 46D изображены концентрации $A\beta$ и $sAPP\beta/sAPP\alpha$ в ЦСЖ яванского макака после введения дозы (среднее значение \pm COC, n = 4-5 на группу).

На Фиг. 47А-47С изображены количества ретикулоцитов крови по отношению к

уровням до введения дозы (Фиг. 47A), абсолютные уровни железа в сыворотке (Фиг. 47B) и абсолютное количество эритроцитов (Фиг. 47C) в периферической крови у яванского макака после однократной дозы 30 мг/кг указанных белков (среднее значение \pm COC, n = 4-5 на группу).

На Фиг. 48A и 48B изображены результаты анализа периферической ФК (концентрации huIgG1 в плазме (Фиг. 48A) и значения клиренса (Фиг. 48B)) указанных белков у мышей с нокином hFcRn в течение 14 дней, после однократного внутривенного введения дозы 10 мг/кг (среднее значение $\pm \text{ COC}$, n=3 на группу).

На Фиг. 49 изображена среднюю интенсивность флуоресценции TfRсвязывающих вариантов CH3C.18.

Подробное описание данного изобретения

ВВЕДЕНИЕ

данном документе описаны полипептиды, которые связывают трансферриновый рецептор (TfR). Данное изобретение основано, в частности, на открытии того, что некоторые аминокислоты в Fc области могут быть модифицированы для создания нового сайта связывания, специфичного для TfR в Fc полипептиде. Воспользовавшись тем обстоятельством, что TfR в высокой степени экспрессируется на клетках гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и что TfR естественным образом переносит трансферрин из крови в головной мозг, эти полипептиды можно применять для транспортировки терапевтических агентов (например, терапевтических полипептидов, вариабельных областей антитела, таких как Fab, и небольших молекул) через ГЭБ. Этот подход может существенно улучшить поглощение головным мозгом терапевтических агентов и поэтому является очень полезным для лечения нарушений и заболеваний, при которых доставка в головной мозг является предпочтительной.

В одном аспекте, данное изобретение частично основано на открытии того, что определенные наборы аминокислот в полипептиде СН3 или СН2-домена могут быть заменены для получения полипептида, который связывает трансферриновый рецептор. Таким образом, в одном аспекте данного изобретения предлагаются полипептиды, связывающиеся с трансферриновым рецептором, которые имеют множественные замены в наборе аминокислот (i) 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194; или (ii) 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения полипептид, связывающий данного трансферриновый рецептор, согласно данному изобретению, имеет множественные замены в наборе аминокислот (iii) 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63; (iv) 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72; (v) 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73; или (vi) 45, 47, 49, 95, 97, 99,

102, 103 и 104, что пронумерованп со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В любом месте от четырех до всех аминокислотных положений набора могут быть замещены. В целях данного описания, замена определяется со ссылкой на SEQ ID NO: 1. Таким образом, аминокислота считается заменой, если она отличается от соответствующей аминокислоты в положении SEQ ID NO: 1, даже если аминокислота присутствует в этом положении во встречающемся в природе полипептиде CH3-домена или CH2.

В данном изобретении также предлагаются способы генерирования полипептида, трансферриновый связывающего рецептор, путем генерирования вариантов полипептидов, имеющих замены во множестве положениях набора (i), (ii), (iii), (iv), (v) или (vi). Такие варианты ΜΟΓΥΤ быть проанализированы на связывание с трансферриновым рецептором и дополнительно мутированы для усиления связывания, как описано в данном изобретении.

В дополнительном аспекте данного изобретения предлагаются способы лечения и способы применения полипептида, связывающего трансферриновый рецептор, для нацеливания композиции на клетки, экспрессирующие трансферриновый рецептор, например, для доставки композиции в эту клетку или доставки композиции через эндотелий, такой как гематоэнцефалический барьер.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Используемые в данном документе формы единственного включают также формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Так, например, ссылка на "полипептид" может включать две или большее количество таких молекул и тому подобное.

В данном контексте термины "около" и "приблизительно", когда они применяется для модификации количества, указанного в числовом значении или диапазоне, указывают, что числовое значение, а также допустимые отклонения от значения, известного специалисту в данной области техники, например, \pm 20%, \pm 10% или \pm 5% находятся в пределах предполагаемого значения приведенной величины.

Термин "трансферриновый рецептор" или "TfR", применямый в контексте данного изобретения, относится к белку 1 трансферринового рецептора. Полипептидная последовательность трансферринового рецептора человека 1 представлена в SEQ ID NO: 235. Также известны последовательности белка 1 трансферринового рецептора от других видов (например, шимпанзе, номер доступа XP_003310238. 1; макака-резус, NP_001244232. 1; собака, NP_001003111. 1; крупный рогатый скот, NP_001193506. 1; мышь, NP_035768. 1; крыса, NP_073203,1; и курица, NP_990587. 1). Термин "трансферриновый рецептор" также охватывает аллельные варианты типовых эталонных

последовательностей, *например*, последовательностей человека, которые кодируются геном в хромосомном локусе белка 1 трансферринового рецептора. Полноразмерный белок трансферринового рецептора включает короткую N-концевую внутриклеточную область, трансмембранную область и большой внеклеточный домен. Внеклеточный домен характеризуется тремя доменами: протеазоподобным доменом, спиральным доменом и апикальным доменом. Последовательность апикального домена трансферринового рецептора человека 1 представлена в SEQ ID NO: 107.

Термины "СН3-домен" и "СН2-домен" в контексте данного описания относятся к полипептидам домена константной области иммуноглобулина. В контексте антител IgG, полипентид СН3-домена относится к сегменту аминокислот от положения примерно 341 до положения примерно 447, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации ЕU, а полипептид СН2-домена относится к сегменту аминокислот от положения примерно 231 до положения примерно 340, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации ЕU. Полипептиды СН2-доменов и СН3-доменов также могут быть пронумерованы с помощью схемы нумерации IMGT (ImMunoGeneTics), в которой нумерация CH2-доменов представляет собой 1-110, а нумерация СН3-доменов представляет собой 1-107, в соответствии с Научной схемой нумерации IMGT (веб-сайт IMGT). CH2 и CH3-домены являются частью Fc области иммуноглобулина. В контексте антител IgG, Fc-область относится к сегменту аминокислот от положения примерно 231 до положения примерно 447, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации ЕU. В данном контексте термин "Гс-область" может также включать по меньшей мере часть шарнирной области антитела. Иллюстративная последовательность шарнирной области представлена в SEQ ID NO: 234.

Термины "дикий тип", "нативный" и "встречающийся в природе" в отношении СН3-домена или СН2-домена применяются в данном документе для обозначения домена, который имеет последовательность, которая встречается в природе.

В контексте данного изобретения термин "мутант" в отношении мутантного полипептида или мутантного полинуклеотида применяется взаимозаменяемо с термином "вариант". Вариант в отношении данной эталонной последовательности СН3-домена или СН2-домена дикого типа может включать встречающийся в природе аллельные варианты. "Не встречающийся в природе" СН3-домен или СН2-домен относится к варианту или мутантному домену, которого нет в клетке в естественных условиях и который получен путем генетической модификации, *например*, с помощью технологии генной инженерии или методики мутагенеза нативного СН3-домена или полинуклеотида СН2-домена-домена или полипептида. "Вариант" включает любой домен, содержащий по меньшей мере одну

аминокислотную мутацию по отношению к дикому типу. Мутации могут включать замены, вставки и делеции.

Термин "аминокислота" относится к встречающимся в природе и синтетическим аминокислотам, а также аналогам аминокислот и миметиков аминокислот, которые функционируют подобно встречающимся в природе аминокислотам.

Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой те аминокислоты, которые кодируются генетическим кодом, а также аминокислоты, которые в последствии модифицированы, *например*, гидроксипролин, у-карбоксиглутамат и О-фосфосерин. "Аналоги аминокислот" относятся к соединениям, которые имеют основную химическую структуру, идентичную с аминокислотой, встречающейся в природе, *то есть*, а углерод, который связан с водородом, карбоксильная группа, амино группа, и R группа, *например*, гомосерин, норлейцин, метионилсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги имеют модифицированные R группы (*например*, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют такую же основную химическую структуру, что и аминокислота, встречающаяся в природе. "Миметики аминокислот" обозначают химические соединения, которые имеют структуру, отличающуюся от общей химической структуры аминокислоты, но функционируют подобно аминокислоте, встречающейся в природе.

Встречающиеся в природе α-аминокислоты включают, без ограничения, аланин (Ala), цистеин (Cys), аспарагиновую кислоту (Asp), глутаминовую кислоту (Glu), фенилаланин (Phe), глицин (Gly), гистидин (His), изолейцин (Ile), аргинин (Arg), лизин (Lys), лейцин (Leu), метионин (Met), аспарагин (Asn), пролин (Pro), глутамин (Gln), серин (Ser), треонин (Thr), валин (Val), триптофан (Тrp), тирозин (Туг) и их комбинации. Стереоизомеры встречающихся в природе α-аминокислот включают, без ограничения, D-аланин (D-Ala), D-цистеин (D-Cys), D-аспарагиновую кислоту (D-Asp), D-глутаминовую кислоту (D-Glu), D-фенилаланин (D-Phe), D-гистидин (D-His), D-изолейцин (D-Ile), D-аргинин (D-Arg), D-лизин (D-Lys), D-лейцин (D-Leu), D-метионин (D-Met), D-аспарагин (D-Asn), D-пролин (D-Pro), D-глутамин (D-Gln), D-серин (D-Ser) D-треонин (D-Thr), D-валин (D-Val), D-триптофан (D-Trp), D-тирозин (D-Tyr) и их комбинации.

Аминокислоты могут обозначаться в данном документе либо с помощью общеизвестных трехбуквенных символов, либо с помощью однобуквенных символов, рекомендованных Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB.

Термины "полипептид", "пептид" и "белок" применяются взаимозаменяемо в данном документе для обозначения полимерных аминокислотных остатков. Эти термины применяют к аминокислотным полимерам, в которых один или большее количество

аминокислотных остатков являются искусственными химическими миметиками соответствующих встречающихся в природе аминокислот, а также встречающихся в природе аминокислотных полимеров и не встречающихся в природе аминокислотных полимеров. Аминокислотные полимеры могут содержать исключительно L-аминокислоты, исключительно D-аминокислоты или смесь L и D аминокислот.

Термин "консервативная замена", "консервативная мутация" или "консервативно модифицированный вариант" относится к изменению, которое приводит к замене аминокислоты другой аминокислотой, и которое может быть категоризировано как имеющее подобную характеристику. Примеры категорий консервативных аминокислотных групп, определенных таким образом, ΜΟΓΥΤ включать: "заряженную/полярную группу", включая Glu (глутаминовая кислота или E), Asp (аспарагиновая кислота или D), Asn (аспарагин или N), Gln (глютамин или Q), Lys (лизин или K), Arg (аргинин или R) и His (гистидин или H); "ароматическую группу", включая Phe (фенилаланин или F), Туг (тирозин или Y), Тгр (триптофан или W) и (гистидин или H); и "алифатическую группу", включая Gly (глицин или G), Ala (аланин или A), Val (валин или V), Leu (лейцин или L), Ile (изолейцин или I), Met (метионин или M), Ser (серин или S), Thr (треонин или T) и Cys (цистеин или C). Внутри каждой группы также могут быть определены подгруппы. Например, группа заряженных или полярных аминокислот может быть подразделена на подгруппы, включая: "положительно заряженную подгруппу", включающую Lys, Arg и His; "отрицательно заряженную подгруппу", включающую Glu и Asp; и "полярную подгруппу", включающую Asn и Gln. В другом примере ароматическая или циклическая группа может быть подразделена на подгруппы, включая: "подгруппу азотного кольца", включающую Pro, His и Trp; и "фенильную подгруппу", включающую Phe и Туг. В другом дополнительном примере алифатическая группа может быть например, "алифатическая неполярная подгруппа", подразделена на подгруппы, включающая Val, Leu, Gly и Ala; и "алифатическая слабополярная подгруппа", включающая Met, Ser, Thr и Cys. Примеры категорий консервативных мутаций включают аминокислотные замены аминокислот в указанных выше подгруппах, такие как, но не ограничиваясь этим:Lys на Arg или наоборот, так что может поддерживаться положительный заряд; Glu на Asp или наоборот, так что может поддерживаться отрицательный заряд; Ser на Thr или наоборот, так что может поддерживаться свободный -OH; и Gln на Asn или наоборот, так что может поддерживаться свободный -NH₂. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения гидрофобные аминокислоты заменяют встречающейся в природе гидрофобной аминокислотой, например, в активном сайте, для сохранения гидрофобности.

Термины "идентичный" или процент "идентичности", в контексте двух или большего количества полипептидных последовательностей, относятся к двум или большему количеству последовательностей или субпоследовательностей, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент аминокислотных остатков, *например*, по меньшей мере 60% идентичности, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% или более, которые являются идентичными в указанной области при сравнении и выровнены для максимального соответствия в окне сравнения, или специально определенной области, что измеряется с помощью одного из алгоритмов сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуального осмотра.

Для последовательностей сравнения полипептилов обычно одну последовательность рассматривают как эталонную последовательность, с которой сравнивают кандидатную последовательность. Выравнивание может быть выполнено с помощью различных способов, доступных для специалиста в данной области техники, например, путем визуального выравнивания, или с помощью общедоступного программного обеспечения, использующего известные алгоритмы для достижения максимального выравнивания. К таким программам относятся программы BLAST, ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, Calif.) или Megalign (DNASTAR). Параметры, используемые при выравнивании для достижения максимального выравнивания, могут быть определены специалистом в данной области техники. Для сравнения последовательностей полипептидных последовательностей в целях данной заявки применяют стандартный белок BLAST в алгоритме BLASTP для выравнивания последовательности двух белков с параметрами по умолчанию.

на" "соответствующий", Термины "определенный ссылкой co или "пронумерованный со ссылкой на" при применении в контексте идентификации данного аминокислотного остатка в полипептидной последовательности относятся к положению остатка указанной эталонной последовательности, когда заданная аминокислотная последовательность максимально выровнена c И сравнена эталонной например, аминокислотный остаток в последовательностью. Так, полипептиде "соответствует" аминокислоте в области SEQ ID NO: 1 из аминокислот 114-220, когда остаток выравнивается с аминокислотой в SEQ ID NO: 1 с оптимальным выравниванием с SEQ ID NO: 1. Полипептид, который выровнен с эталонной последовательностью, не должен иметь ту же длину, что и эталонная последовательность.

В данном контексте термин "аффинность связывания" относится к степени

нековалентного взаимодействия между двумя молекулами, например, одним сайтом связывания на полипептиде и мишенью, например, трансферриновым рецептором, с которым он связывается. Таким образом, например, указанный термин может относиться к взаимодействиям 1: 1 между полипептидом и его мишенью, если иное не указано или не ясно из контекста. Аффинность связывания может быть определена количественно путем измерения равновесной константы диссоциации (Кд), которая относится к константе скорости диссоциации (k_d , время⁻¹) деленной на константу скорости ассоциации (k_a , время⁻ M^{-1}). Значение K_D быть определено может путем измерения кинетики комплексообразования и диссоциации, например, применяя способы поверхностного плазмонного резонанса (SPR), например, а систему BiacoreTM; анализы кинетического исключения, такие как KinEx $A^{(g)}$; и биослойную интерферометрию (*например*, применяя платформу ForteBio® Octet®). В данном контексте "аффинность связывания" включает в себя не только формальную аффинность связывания, такую как отражающую взаимодействия 1:1 между полипептидом и его мишенью, но также и кажущуюся аффинность, для которой рассчитаны значения K_D , что может отражать авидное связывание.

Фраза "специфически связывается" или "выборочно связывается" с мишенью например, трансферриновым рецептором, когда она относится к полипептиду, содержащему модифицированный СН3-домен и/ или модифицированный СН2-домендомен, как описано в данном документе, относится к реакции связывания, посредством которой полипептид связывается с мишенью с большей аффинностью, большей авидностью и/или большей продолжительностью, чем он связывается с структурно отличающейся целью, например, когда мишень не относится семейству трансферриновых рецепторов. В типичных вариантах осуществления данного изобретения данный полипептид имеет по меньшей мере 5-кратную, 6-кратную, 7-кратную, 8-кратную, 9-кратную, 10-кратную, 20-кратную, 25-кратную, 50-кратную или 100-кратную или более высокую аффинность к трансферриновому рецептору по сравнению с неродственной мишенью при анализе аффинности в тех же условиях. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН3-доменом и/или модифицированнымСН2-доменом-доменом специфически связывается с эпитопом на трансферриновом рецепторе, который сохраняется среди видов, например, сохраняется между видом приматов, отличных от человека, и человеческим видом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид может связываться исключительно с трансферриновым рецептором человека.

Термины "субъект", "индивидуум" и "пациент", применяемые в данном

документе взаимозаменяемо, относятся к млекопитающему, включая, но не ограничиваясь этим, приматов, отличных от человека, грызунов (нап*ример*, крысы, мыши и морские свинки), кроликов, коров, свиней, лошадей и другие виды млекопитающих. В одном варианте осуществления данного изобретения указанный пациент является человеком.

Термины "лечение", "воздействие" и тому подобное применяются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Термины "лечение" или "воздействие" могут относиться к любым признакам успеха в лечении или уменьшения интенсивности поражения, включая любой объективный или заболевания или патологичесого состояния, субъективный параметр, такой как ослабление, ремиссия, улучшение выживаемости пациента, увеличение периода времени или показателя выживаемости, уменьшение интенсивности симптомов или повышение степени переносимости поражения, заболевания или патологического состояния для пациента, замедление скорости ослабления или ухудшение состояния здоровья, или улучшение физического или психического благополучия пациента. Лечение или ослабление симптомов может быть основано на объективных или субъективных параметрах. Эффективность лечения можно сравнить между индивидуумами или пулами индивидуумов, не получающих данное лечение, или у того же пациента до лечения или в разное время в ходе лечения.

Термин "фармацевтически приемлемое вспомагательное вещество" относится к неактивному фармацевтическому ингредиенту, который биологически или фармакологически совместим для применения у людей или животных, такому как, но не ограничиваясь ими, буфер, носитель или консервант.

В данном контексте "терапевтическое количество" или "терапевтически эффективное количество" агента представляет собой количество агента, достаточное для лечения, облегчения, ослабляет или уменьшения тяжести симптомов заболевания у субъекта. "Терапевтическое количество" или "терапевтически эффективное количество" агента может улучшить выживаемость пациента, увеличить период времени или показатель выживаемости, уменьшить интенсивность симптомов, повысить степень переносимости поражения, заболевания или патологического состояния, замедлить скорость ослабления или ухудшения состояния здоровья, или улучшить физическое или психическое благополучие пациента.

Термин "вводить" относится к способу доставки агентов, соединений или композиций к желаемому участку биологического действия. Эти способы включают, но не ограничиваются ими, местную доставку, парентеральную доставку, внутривенную доставку, внутрикожную доставку, внутримышечную доставку, интратекальную доставку,

доставку в толстый кишечник, ректальную доставку или внутрибрюшинную доставку. В одном варианте осуществления данного изобретения полипептиды, описанные в данном документе, вводят внутривенно.

ПОЛИПЕПТИДЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТРАНСФЕРРИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР

В этом разделе описано получение полипептидов согласно данному изобретению, которые связываются с трансферриновым рецептором, и способы их переноса через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

В одном аспекте предлагаются полипептиды, которые содержат домены СН3 или СН2, имеющие модификации, которые позволяют полипептидам специфически связываться с трансферриновым рецептором. Эти модификации вводят в указанные наборы аминокислот, которые присутствуют на поверхности СН3-домена или СН2-домена. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептиды, содержащие модифицированные СН3 или СН2-домены, специфически связываются с эпитопом в апикальном домене трансферринового рецептора.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что CH2-домены и CH3-домены других изотипов иммуноглобулинов, *например*, IgM, IgA, IgE, IgD u $m.\partial$. могут быть аналогичным образом модифицированы путем идентификации аминокислот в тех доменах, которые соответствуют наборам (i) - (vi), описанным в данном документе. Модификации также могут быть внесены в соответствующие домены из иммуноглобулинов других видов, *например*, приматов, отличных от человека, обезьян, мышей, крыс, кроликов, собак, свиней, кур и т. п.

СНЗ полипептиды, связывающие трансферриновый рецептор

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный домен представляет собой СН3-домен Ig человека, такой как СН3-домен IgG. Указанный СН3-домен может быть любого подтипа IgG, то есть, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG, СН3-домен относится к сегменту аминокислот от положения примерно 341 до положения примерно 447, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Указанные положения в СН3-домене для целей идентификации соответствующего набора аминокислотных положений для связывания трансферринового рецептора определяются со ссылкой на SEQ ID NO: 3 или определяются со ссылкой на аминокислоты 114-220 из SEQ ID NO: 1, если не указано иное. Замены также определяются со ссылкой на SEQ ID NO: 1, то есть аминокислота считается заменой относительно аминокислоты в соответствующем положении в SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 1 включает частичную последовательность шарнирной области, PCP, в качестве аминокислот 1-3. Нумерация положений в СН3-домене со ссылкой на SEQ ID NO: 1

включает первые три аминокислоты.

Как указано выше, наборы остатков СН3-домена, которые могут быть модифицированы согласно данному изобретению, пронумерованы в данном документе со ссылкой на SEQ ID NO: 1. Любой СН3-домен, *например*, СН3-домен IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, может иметь модификации, *например*, аминокислотные замены в одном или большем количестве наборов остатков, которые соответствуют остаткам в отмеченных положениях в SEQ ID NO: 1. Выравнивание аминокислотной последовательности IgG1 SEQ ID NO: 1 с IgG2, IgG3 и IgG4 человека продемонстрировано на Фиг. 38. Положения каждой из последовательностей IgG2, IgG3 и IgG4, которые соответствуют любому заданному положению SEQ ID NO: 1, могут быть легко определены.

В одном варианте осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СНЗ-доменом, который специфически связывает трансферриновый рецептор, связывается с апикальным доменом трансферринового рецептора на эпитопе, который содержит положение 208 полноразмерной последовательности трансферринового рецептора человека (SEQ ID NO: 235), которое соответствует положению 11 последовательности апикального домена трансферринового рецептора человека, представленной в SEQ ID NO: 107. SEQ ID NO: 107 соответствует аминокислотам 198-378 последовательности Р02786 унипротеина трансферринового рецептора 1 человека (SEQ ID NO: 235). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН3-доменом связывается с апикальным доменом трансферринового рецептора на эпитопе, который содержит положения 158, 188, 199, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215 и/или 294 полноразмерной последовательности трансферринового рецептора человека (SEQ ID NO: 235). Указанный модифицированный полипептид с СН3-доменом может связываться с трансферриновым рецептором без блокирования или иного ингибирования связывания трансферрина с указаным рецептором. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR по существу не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 50% (например, менее чем на около 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5%). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 20% (например, менее чем на около 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%). Иллюстративные полипептиды с СН3-доменом, которые проявляют эту специфичность связывания, включают полипептиды, имеющие аминокислотные замены в положениях 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194, как определено со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1.

Набор положений для CH3 полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор (i):157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН3-доменом, согласно данному изобретению, содержит по меньшей мере три или по меньшей мере четыре и, как правило, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя аминокислотных положений, включающем в себя 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194 (набор і). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 6. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислота в положении 161 и/или 194 представляет собой ароматическую аминокислоту, истример, Тгр, Рhе или Туг. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислота в положении 161 представляет собой Тгр. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислота в положении 161 представляет собой Тгр. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения данного изоб

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СНЗ-доменом, который специфически связывает трансферриновый рецептор, включает в себя по меньшей мере одно положение, имеющее замену относительно SEQ ID NO: 1, как представлено ниже:Leu, Tyr, Met или Val в положении 157; Leu, Thr, His или Pro в положении 159; Val, Pro или кислотная аминокислота в положении 160; ароматическая аминокислота, например, Trp или Gly (например, Trp) в положении 161; Val, Ser или Ala в положении 162; кислотная аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 186; Thr или кислотная аминокислота в положении 189; или Trp, Туг, His или Phe в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН3-доменом может содержать консервативную замену, например, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (например, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе. Таким образом, например, Пе может присутствовать в положении 157, 159 и/или в положении 186. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения кислотная аминокислота в одном, двух или в каждом из положений 160, 186 и 189 представляет собой Glu. В других вариантах осуществления данного изобретения кислотная аминокислота в одном, двух или в каждом из положений 160, 186 и 189

представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь или все восемь положений 157, 159, 160, 161, 162, 186, 189 и 194 имеют аминокислотную замену, как указано в этом параграфе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с СН3доменом, имеющий модификации в наборе (i), содержит нативную Asn в положении 163. В вариантах осуществления изобретения некоторых данного указанный модифицированный СН3-домен содержит Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala или Asp в положении 163. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН3-доменом дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих в себя 153, 164, 165 и 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Trp, Tyr, Leu или Gln могут присутствовать в положении 153. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Ser, Thr, Gln или Phe могут присутствовать в положении 164. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Gln, Phe или His могут присутствовать в положении 165. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Glu может присутствовать в положении 188.

В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН3-доменом содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь девять или десять положений, выбранных из следующих:Тгр, Leu или Glu в положении 153; Туг или Phe в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; Тгр в положении 161; Ser, Ala, Val или Asn в положении 162; Ser или Asn в положении 183; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; и/или Phe в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН3-доменом содержит все одиннадцать положений, как представлено ниже:Тгр, Leu или Glu в положении 153; Туг или Phe в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; Тгр в положении 161; Ser, Ala, Val или Asn в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; и/или Phe в положении 194.

В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит Leu или Met в положении 157; Leu, His или Pro в положении 159; Val в положении 160; Trp в положении 161; Val или Ala в положении 162; Pro в положении 186; Thr в положении 189; и/или Trp в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 164. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный

полипептид с модифицированным доменом СН3 дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 153 и/или Gln, Phe или His в положении 165. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Trp присутствует в положении 153 и/или Gln присутствует в положении 165. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 не имеет Trp в положении 153.

В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит Туг в положении 157; Thr в положении 159; Glu или Val в положении 160; Trp в положении 161; Ser в положении 162; Ser или Thr в положении 186; Glu в положении 189; и/или Phe в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит нативную Asn в положении 163. В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 153; и/или Glu в положении 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Trp в положении 153 и/или Glu в положении 188.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество из следующих замен: Trp в положении 153; Thr в положении 159; Trp в положении 161; Val в положении 162; Ser или Thr в положении 186; Glu в положении 188; и/или Phe в положении 194.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранных из следующих положений: положения 187, представляющего собой Lys, Arg, Gly или Pro; положения 197, представляющего собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положения 199, представляющего собой Ser, Trp или Gly.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ, который специфически связывает трансферриновый рецептор, имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит аминокислоты 157-163 и/или 186-194 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного

изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит аминокислоты 153-163 и/или 186-194 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит аминокислоты 153-163 и/или 186-199 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СН3, который специфически связывает трансферриновый рецептор, имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процентная идентичность не включает набор положений 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит аминокислоты 157-163 и/или аминокислоты 186-194, как указано в любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435, при условии, что по меньшей мере пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, или шестнадцать положений, соответствующих положениям 153, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 186, 187, 188, 189, 194, 197 и 199 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435, не удаляются и не заменяются.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ имеет по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435, и также содержит по меньшей мере пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать или шестнадцать из следующих положений: Trp, Tyr, Leu, Gln или Glu в положении 153; Leu, Tyr, Met или Val в положении 157; Leu, Thr, His или Pro в положении 159; Val, Pro или кислотная аминокислота в положении 160; ароматическая аминокислота, *например*, Trp в положении 161; Val, Ser или Ala в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Ser, Thr, Gln или Phe в положении 164; Gln, Phe или His в положении 165; кислотная аминокислота,

Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 186; Lys, Arg, Gly или Pro в положении 187; Glu или Ser в положении 188; Thr или кислотная аминокислота в положении 189; Trp, Tyr, His или Phe в положении 194; Ser, Thr, Glu или Lys в положении 197; и Ser, Trp или Gly в положении 199.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, согласно данному изобретению, содержит одну или большее количество замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 186, 188, 189, 194, 197 и 199; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp или Туг в положении 153; ароматическую аминокислоту (например, Туг, Phe или Тгр), Met, Pro или Val в положении 157; Thr, Asn или Val в положении 159; Glu, Ile, Pro или Val в положении 160; алифатическую аминокислоту (например, Ala, Ile или Val), Ser или Thr в положении 162; Ser, Asn, Arg или Thr в положении 163; Thr, His или Ser в положении 186; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 188; Glu или Arg в положении 189; Phe, His, Lys, Туг или Trp в положении 194; Ser, Thr или Trp в положении 197; и Ser, Cys, Pro, Met или Trp в положении 199. Полипептид с модифицированным доменом CH3 может иметь следующую последовательность: $GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVX_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6YKTTP\\$ PVLDSDGSFFLYSKLTVX7KX8X9WQQGX10VFX11CX12VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 556), в которой X_1 представляет собой E, L, S, V, W или Y; X_2 представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y, F или W), M, P или V; X₃ представляет собой T, N или V; X₄ представляет собой E, I, P или V; X₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A, I или V), S или T; X₆ представляет собой S, N, R или T; X₇ представляет собой T, H или S; X₈ представляет собой E, S, D, G, T, P, Q или R; X₉ представляет собой E или R; X₁₀ представляет собой F, H, K, Y или W; X₁₁ представляет собой $S,\ T$ или $W;\ u\ X_{12}$ представляет собой $S,\ C,\ P,\ M$ или $W.\ B$ осуществления данного изобретения определенных вариантах полепептид модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: $X_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6$ (SEQ ID NO: 554), в которой X_1 представляет собой E, L, S, V, W или Y; X₂ представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y, F или W), M, P или V; X₃ представляет собой T, N или V; X₄ представляет собой E, I, P или V; X₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A, I или V), S или T; и X₆ представляет собой S, N, R или T. В определенных вариантах осуществления данного

изобретения полепептид с модифицированным доменом CH3 может содержать следующую последовательность: $X_1KX_2X_3WQQGX_4VFX_5CX_6$ (SEQ ID NO: 555), в которой X_1 представляет собой T, H или S; X_2 представляет собой E, S, D, G, T, P, Q или R; X_3 представляет собой E или E; E0 или E1 или E3 представляет собой E3 или E4 представляет собой E4 или E5 представляет собой E6 или E7 или E8 или E9 или

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Glu, Leu или Trp в положении 153; ароматическую аминокислоту в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; алифатическую аминокислоту или Ser в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; Phe, His, Tyr или Trp в положении 194; Ser в положении 197; и Ser в положении 199, при этом замены и положения определены со ссылкой последовательность SEQ ID NO: 13. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения ароматическая аминокислота в положении 157 представляет собой Туг или Phe, а алифатическая аминокислота в положении 162 представляет собой Ala или Val. модифицированным CH3 Полипептид с доменом может иметь следующую последовательность:

 $GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVX_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6YKTTP\\$ $PVLDSDGSFFLYSKLTVX_7KX_8X_9WQQGX_{10}VFX_{11}CX_{12}VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK\\$ (SEQ ID NO: 559), в которой X₁ представляет собой E, L или W; X₂ представляет собой ароматическую аминокислоту (например, У или F); Х3 представляет собой Т; Х4 представляет собой Е; Х₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, А или V) или S; X₆ представляет собой S или N; X₇ представляет собой T или S; X₈ представляет собой E или S; X₉ представляет собой E; X₁₀ представляет собой F, H, Y или W; X₁₁ представляет собой S; и X₁₂ представляет собой S. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: $X_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6$ (SEQ ID NO: 557), in which X_1 представляет собой E, L или W; X_2 представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y или F); Х₃ представляет собой Т; Х₄ представляет собой Е; Х₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A или V) или S; и X₆ представляет собой S или N. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: X₁KX₂X₃WQQGX₄VFX₅CX₆ (SEQ ID NO: 558), B которой X₁ представляет собой T или S; X₂ представляет собой E или S; X₃ представляет собой E; X₄ представляет собой F, H, Y, или W; X₅ представляет собой S; и X₆

представляет собой S.

В других вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Glu, Leu или Trp в положении 153; Туг или Phe в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; Ala, Val или Ser в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; Phe в положении 194; Ser в положении 197; и Ser в положении 199, при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 13. Полипептид с модифицированным доменом СН3 следующую может иметь последовательность: $GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVX_{1}WESX_{2}GX_{3}X_{4}WX_{5}X_{6}YKTTP$ PVLDSDGSFFLYSKLTVX7KX8X9WQQGX10VFX11CX12VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 562), в которй X₁ представляет собой E, L или W; X₂ представляет собой Y или F; Х₃ представляет собой T; Х₄ представляет собой E; Х₅ представляет собой S, А или V; X₆ представляет собой S или N; X₇ представляет собой T или S; X₈ представляет собой Е или S; X_9 представляет собой E; X_{10} представляет собой F; X_{11} представляет собой S; и X₁₂ представляет собой S. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую $X_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6$ (SEQ ID NO: 560), в которой X_1 последовательность: представляет собой E, L или W; X₂ представляет собой Y или F; X₃ представляет собой T; X₄ представляет собой E; X₅ представляет собой S, A или V; и X₆ представляет собой S или N. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: $X_1KX_2X_3WQQGX_4VFX_5CX_6$ (SEQ ID NO:561), в которой X_1 представляет собой T или S; X₂ представляет собой E или S; X₃ представляет собой E; X₄ представляет собой F; X₅ представляет собой S; и X₆ представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, согласно данному изобретению, содержит только одну замену в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 186, 188, 189, 194, 197 и 199; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 238. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp или Туг в положении 153. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Glu в положении 153. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Leu в положении 153. Указанный

полипептид с модифицированным доменом Ser может содержать Leu в положении 153. Указанный полипептид с модифицированным доменом Val может содержать Leu в положении 153. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Тгр в положении 153. Указанный полипептид с модифицированным доменом Val может содержать Туг в положении 153. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит Туг, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 157. Указанный полипептид с модифицированным доменом Val может содержать Туг в положении 157. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Phe в положении 157. Указанный полипептид с модифицированным доменом Val может содержать Trp в положении 157. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Меt в положении 157. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Рго в положении 157. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Val в положении 157. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Thr, Asn или Val в положении 159. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Thr в положении 159. Указанный полипентид с модифицированным доменом СН3 может содержать Asn в положении 159. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Val в положении 159. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Glu, Ile, Pro или Vall в положении 160. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Glu в положении 160. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Ile в положении 160. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Рго в положении 160. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Val в положении 160. В некоторых осуществления данного изобретения вариантах указанный полипептид модифицированным доменом СН3 содержит Ala, Ile, Val, Ser или Thr в положении 162. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Ala в положении 162. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Ile в положении 162. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Val в положении 162. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Ser в положении 162. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Thr в положении 162. В некоторых осуществления изобретения вариантах данного указанный полипептид

модифицированным доменом CH3 содержит нативную Ser, Asn, Arg или Thr в положении 163. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Ser в положении 163. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Asn в положении 163. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Arg В положении 163. Указанный полипептид модифицированным доменом CH3 может содержать Thr в положении 163. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид модифицированным доменом СН3 содержит Thr, His или Ser в положении 186. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Thr в положении 186. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать His в положении 186. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Ser в положении 186. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Glu в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Ser в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Аѕр в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 содержать Gly в положении 188. Указанный полипептид с может модифицированным доменом СН3 может содержать Thr в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Рго в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Gln в положении 188. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Arg в положении 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 содержит Glu или Arg в положении 189. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Glu в положении 189. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Arg в положении 189. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Phe, His, Lys, Туг или Trp в положении 194. Указанный полипентид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Phe в положении 194. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Ніѕ в положении 194. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Ser в положении 194. Указанный полипептид с модифицированным доменом Val может содержать Туг в положении 194. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Тгр в положении 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Ser, Thr или Trp в положении 197. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Ser в положении 197. Указанный полипентид с модифицированным доменом CH3 может содержать Thr в положении 197. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Тгр в положении 197. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит Ser, Cys, Pro, Met или Trp в положении 199. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Ser в положении 199. Указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 может содержать Cys В положении 199. Указанный полипептид модифицированным доменом СНЗ может содержать Рго в положении 199. Указанный полипептид с модифицированным доменом СН3 может содержать Меt в положении 199. Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать Тгр в положении 199. Полипептид с модифицированным доменом СНЗ может иметь последовательность любой из SEQ ID NO: 563-574.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, согласно данному изобретению, содержит одну или большее количество замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 164, 186, 189 и 194; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu или Trp в положении 153; Val, Trp, Leu или Tyr в положении 157; Leu, Pro, Phe, Thr или His в положении 159; Pro, Val или Glu в положении 160; Ala, Ser, Val или Gly в положении 162; Leu, His, Gln, Gly, Val, Ala, Asn, Asp, Thr или Glu в положении 163; Thr, Phe, Gln, Val или Туг в положении 164; Leu, Ser, Glu, Ala или Pro в положении 186; Glu, Asp, Thr или Asn в положении 189; и Trp, Tyr, Phe или His в положении 194. Полипептид с модифицированным доменом СНЗ может иметь следующую последовательность: $GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVX_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6X_7KTTP$ PVLDSDGSFFLYSKLTVX8KSX9WQQGX10VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 577), в которой X_1 представляет собой E или W; X_2 представляет собой V, W, L или Y; X₃ представляет собой L, P, F, T или H; X₄ представляет собой P, V или E; X₅ представляет собой A, S, V или G; X₆ представляет собой L, H, Q, G, V, A N, D, T или E; X₇ представляет собой T, F, Q, V или Y; X₈ представляет собой L, S, E, A или P; X₉

представляет собой E, D, T или N; и X₁₀ представляет собой W, Y, H или F. В вариантах осуществления данного изобретения модифицированным доменом СН3 может содержать следующую последовательность: $X_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 575), в которой X_1 представляет собой E или W; X₂ представляет собой V, W, L или Y; X₃ представляет собой L, P, F, T или H; X₄ представляет собой P, V или E; X5 представляет собой A, S, V или G; X6 представляет собой L, H, Q, G, V, A N, D, Т или Е; и X₇ представляет собой T, F, Q, V или Y. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: X₁KSX₂WQQGX₃ (SEQ ID NO: 576), в которой X₈ представляет собой L, S, E, A или P; X₉ представляет собой E, D, T или N; и X_{10} представляет собой W, Y, H или F.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом CH3 содержит Glu или Trp в положении 153; Trp, Leu или Туг в положении 157; Thr или His в положении 159; Val в положении 160; Ala, Ser или Val в положении 162; Val, Asn или Thr в положении 163; Gln или Туг в положении 164; Pro в положении 186; Thr или Asn в положении 189; и Trp, Tyr, Phe или His в положении 194, при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 9. Полипептид с модифицированным доменом СН3 может следующую иметь последовательность: $GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVX_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6X_7KTTP$ PVLDSDGSFFLYSKLTVX8KSX9WQQGX10VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 580), в которой X₁ представляет собой E или W; X₂ представляет собой W, L или Y; X₃ представляет собой T или H; X₄ представляет собой V; X₅ представляет собой A, S или V; X₆ представляет собой V, T или N; X₇ представляет собой Y или Q; X₈ представляет собой P; X_9 представляет собой T или N; и X_{10} представляет собой W, Y, Hили F. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: $X_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6X_7$ (SEQ ID NO:578), в которой X_1 представляет собой E или W; X_2 представляет собой W, L или Y; X₃ представляет собой T или H; X₄ представляет собой V; X₅ представляет собой A, S или V; X₆ представляет собой V, T или N; и X₇ представляет собой У или О. В определенных вариантах осуществления данного изобретения полепептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать следующую последовательность: $X_1KSX_2WQQGX_3$ (SEQ ID NO: 579), в которой X_1 представляет собой Р; Х2 представляет собой Т или N; и Х3 представляет собой W, Y, H или F.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид,

связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 116-130. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 116-130, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 116-130, но в которой три аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 131-139. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 131-139, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 131-139, но в которой три или четыре аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339, но в которой три аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345, но в которой три или четыре аминокислоты замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислоты 157-194, аминокислоты 153-194 или аминокислоты 153-199 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и

422-435. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 157-194 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435, или с аминокислотами 153-194, или с аминокислотам 153-199, любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435 без первых трех аминокислот "РСР" на аминотерминальном конце. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422 -435, что определено без первых трех аминокислот "РСР" на аминотерминальном конце.

а. Набор положений для СН3 полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор (ii):118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН3-доменом согласно данному изобретению содержит по меньшей мере три или по меньшей мере четыре и, как правило, пять, шесть, семь или восемь замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213 (набор іі). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 5. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным CH3-доменом содержит Gly в положении 210; Phe в положении 211; и/или Аѕр в положении 213. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Glu присутствует в положении 213. В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН3доменом содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Phe или Ile в положении 118; Asp, Glu, Gly, Ala или Lys в положении 119; Tyr, Met, Leu, Ile или Asp в положении 120; Thr или Ala в положении 122; Gly в положении 210; Phe в положении 211; His, Tyr, Ser или Phe в положении 212; или Asp в положении 213. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь или все восемь положений 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213 имеют замену, как указано в этом параграфе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН3-доменом может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СН3, который специфически связывает трансферриновый рецептор, имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 30-46. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит аминокислоты 118-122 и/или аминокислоты 210-213 любой из SEQ ID NO: 30-46.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит аминокислоты 118-122 и/или аминокислоты 210-213, как указано в любой из SEQ ID NO: 30-46.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 140-153. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 140-153, но в которой одна или две аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 154-157. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит

аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 154-157, но в которой одна аминокислота замещена или в которой две аминокислоты замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислоты 118-213 любой из SEQ ID NO: 30-46. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 118-213 любой из SEQ ID NO: 30-46.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 30-46. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 30-46 без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 30-46 или любой из SEQ ID NO: 30-46, что определено без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце.

СН2 полипептиды, связывающие трансферриновый рецептор

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный домен представляет собой СН2-домен Ig человека, такой как СН2-домен IgG. Указанный СН2-домен может быть любого подтипа IgG, то есть , из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG, СН2-домен относится к сегменту аминокислот от положения примерно 231 до положения примерно 340, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Положения в СН2-домене для целей идентификации соответствующего набора аминокислотных положений для связывания с трансферриновым рецептором определяются со ссылкой на SEQ ID NO: 2 или определяются со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1. Замены также определяются со ссылкой на SEQ ID NO: 1, то есть аминокислота считается заменой относительно аминокислоты в соответствующем положении в SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 1 включает частичную последовательность шарнирной области, PCP, в качестве аминокислот 1-3. Три остатка не являются частью Fc области; тем не мение, нумерация положений в СН2-домене со ссылкой на SEQ ID NO: 1 включает первые три аминокислоты.

Как указано выше, наборы остатков CH2-домена, которые могут быть модифицированы согласно данному изобретению, пронумерованы в данном документе со

ссылкой на SEQ ID NO: 1. Любой CH2-домен, *например*, CH2-домен IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, может иметь модификации, *например*, аминокислотные замены в одном или большем количестве наборов остатков, которые соответствуют остаткам в отмеченных положениях в SEQ ID NO: 1. Выравнивание аминокислотной последовательности IgG1 SEQ ID NO: 1 с IgG2, IgG3 и IgG4 человека продемонстрировано на Фиг. 38. Положения каждой из последовательностей IgG2, IgG3 и IgG4, которые соответствуют любому заданному положению SEQ ID NO: 1, могут быть легко определены.

варианте осуществления данного изобретения полипептид с одном модифицированным СН2-доменом, который специфически связывает трансферриновый рецептор, связывается с эпитопом в апикальном домене трансферринового рецептора. Последовательность апикального домена трансферринового рецептора человека представлена в SEQ ID NO: 107, которая соответствует аминокислотам 198-378 последовательности Р02786 унипротеина трансферринового рецептора 1 человека. Указанный модифицированный полипептид с СН2-доменом может связываться с трансферриновым рецептором без блокирования или иного ингибирования связывания трансферрина с указаным рецептором. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR по существу не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 50% (например, менее чем на около 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5%). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 20% (например, менее чем на около 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%).

а. Набор положений для CH2 полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор (iii):47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом, согласно данному изобретению, содержит по меньшей мере три или по меньшей мере четыре и, как правило, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63 (набор ііі). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Glu в положении 60 и/или Тгр в положении 61. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит по меньшей мере одну замену

в следующем положении: Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр в положении 47; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг в положении 49; Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe в положении 56; Arg, Ser, Ala или Gly в положении 58; Туг, Тгр, Arg или Val в положении 59; Glu в положении 60; Тгр или Туг в положении 61; Gln, Туг, His, Ile, Phe, Val или Asp в положении 62; или Leu, Тгр, Arg, Asn, Туг или Val в положении 63. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или все девять положений 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63 имеют замену, как указано в этом параграфе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 47, представляющего собой Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр; положения 49, представляющего собой Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг; положения 56, представляющего собой Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe; положения 58, представляющего собой Arg, Ser, Ala или Gly; положения 59, представляющего собой Туг, Trp, Arg или Val; положения 60, представляющего собой Glu; положения 61, представляющего собой Trp или Туг; положения 62, представляющего собой Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val или Asp; и положения 63, представляющего собой Leu, Trp, Arg, Asn, Туг или Val. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Arg в положении 58; Туг или Trp в положении 59; Glu в положении 60; Trp в положении 61; и/или Arg или Trp в положении 63.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 47-62. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит аминокислоты 47-49 и/или аминокислоты 56-63 любой из SEQ ID NO: 47-62.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с

модифицированным СН2-доменом по данному изобретению имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит аминокислоты 47-49 и/или аминокислоты 56-63, как указано в любой из SEQ ID NO: 47-62.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 158-171. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 158-171, но в которой одна аминокислота замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 172-186. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 172-186, но в которой одна аминокислота замещена или в которой две аминокислоты замещены. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 172-186, но в которой три или четыре аминокислоты замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислоты 47-63 любой из SEQ ID NO: 47-62. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 47-63 любой из SEQ ID NO: 47-62.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 47-62. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 47-62 без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце. В

дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 47-62 или любой из SEQ ID NO: 47-62, что определено без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце.

а. Набор положений для CH2 полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор (iv):39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом, согласно данному изобретению, содержит по меньшей мере три или по меньшей мере четыре и, как правило, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72 (набор iv). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 2. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Рго в положении 43, Glu в положении 68 и/или Туг в положении 70. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Pro, Phe, Ala, Met или Asp в положении 39; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Туг в положении 40; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu в положении 41; Pro, Val, Ala, Thr или Asp в положении 42; Pro, Val или Phe в положении 43; Trp, Gln, Thr или Glu в положении 44; Glu, Val, Thr, Leu или Trp в положении 68; Tyr, His, Val или Asp в положении 70; Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val в положении 71; или Туг, Asn, Asp, Ser или Pro в положении 72. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять положений 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72 имеют замену, как указано в этом параграфе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом может содержать консервативную замену, например, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (например, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Pro, Phe или Ala в положении 39; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala или Ile в положении 40; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe или Trp в положении 41;

Pro, Val или Ala в положении 42; Pro в положении 43; Trp или Gln в положении 44; Glu в положении 68; Туг в положении 70; Thr, His или Gln в положении 71; и/или Туг, Asn, Asp или Ser в положении 72.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Меt в положении 39; Leu или Glu в положении 40; Trp в положении 41; Pro в положении 42; Val в положении 43; Thr в положении 44; Val или Thr в положении 68; His в положении 70; His, Arg или Asn в положении 71; и/или Pro в положении 72.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Asp в положении 39; Asp в положении 40; Leu в положении 41; Thr в положении 42; Phe в положении 43; Gln в положении 44; Val или Leu в положении 68; Val в положении 70; Thr в положении 71; и/или Pro в положении 72.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 63-85. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит аминокислоты 39-44 и/или аминокислоты 68-72 любой из SEQ ID NO: 63-85.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит аминокислоты 39-44 и/или аминокислоты 68-72, как указано в любой из SEQ ID NO: 63-85.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 187-204. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 187-204, но в которой одна

или две аминокислоты замещены. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из 187-204, но в которой три аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 205-215. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 205-215, но в которой одна аминокислота замещена или в которой две аминокислоты замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислоты 39-72 любой из SEQ ID NO: 63-85. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 39-72 любой из SEQ ID NO: 63-85.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 63-85. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 63-85 без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 63-85 или любой из SEQ ID NO: 63-85, что определено без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце.

а. Набор положений для CH2 полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор (v): 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом, согласно данному изобретению, содержит по меньшей мере три или по меньшей мере четыре и, как правило, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73 (набор v). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения

указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Val или Asp в положении 41; Pro, Met или Asp в положении 42; Pro или Trp в положении 43; Arg, Trp, Glu или Thr в положении 44; Met, Tyr или Trp в положении 45; Leu или Trp в положении 65; Thr, Val, Ile или Lys в положении 66; Ser, Lys, Ala или Leu в положении 67; His, Leu или Pro в положении 69; или Val или Trp в положении 73. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять положений 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73 имеют замену, как указано в этом параграфе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом может содержать консервативную замену, истример, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (истример, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Val в положении 41; Pro в положении 42; Pro в положении 43; Arg или Trp в положении 44; Met в положении 45; Leu в положении 65; Thr в положении 66; Ser в положении 67; His в положении 69; и/или Val в положении 73.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Asp в положении 41; Met или Asp в положении 42; Trp в положении 43; Glu или Thr в положении 44; Туг или Trp в положении 45; Trp в положении 65; Val, Ile или Lys в положении 66; Lys, Ala или Leu в положении 67; Leu или Pro в положении 69; и/или Trp в положении 73.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 86-90. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит аминокислоты 41-45 и/или аминокислоты 65-73 любой из SEQ ID NO: 86-90.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или по меньшей мере 95%

идентичности с аминокислотами 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным CH2-доменом содержит аминокислоты 41-45 и/или аминокислоты 65-73, как указано в любой из SEQ ID NO: 86-90.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 216-220. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 216-220, но в которой одна или две аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 221-224. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 221-224, но в которой одна аминокислота замещена или в которой две аминокислоты замещены. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 221-224, но в которой три или четыре аминокислоты замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислоты 41-73 любой из SEQ ID NO: 86-90. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 41-73 любой из SEQ ID NO: 86-90.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 86-90. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 86-90 без первых трех аминокислот "PCP" на аминотерминальном конце. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 86-90 или любой из SEQ ID NO:

86-90, что определено без первых трех аминокислот "РСР" на аминотерминальном конце.

а. Набор положений для CH2 полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор (vi): 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом, согласно данному изобретению, содержит по меньшей мере три или по меньшей мере четыре и, как правило, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себянаборе аминокислотных положений, включающем в себя 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104 (набор vi). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 4. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Trp в положении 103. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Trp, Val, Ile или Ala в положении 45; Trp или Gly в положении 47; Tyr, Arg или Glu в положении 49; Ser, Arg или Gln в положении 95; Val, Ser или Phe в положении 97; Ile, Ser или Trp в положении 99; Trp, Thr, Ser, Arg или Asp в положении 102; Trp в положении 103; или Ser, Lys, Arg или Val в положении 104. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или все девять положений 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104 имеют замену, как указано в этом параграфе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом может содержать консервативную замену, например, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (например, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит по меньшей мере, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять положений, выбранных из следующих положений: положения 45, представляющего собой Тгр, Val, Ile или Ala; положения 47, представляющего собой Тгр или Gly; положения 49, представляющего собой Туг, Arg или Glu; положения 95, представляющего собой Ser, Arg или Gln; положения 97, представляющего собой Val, Ser или Phe; положения 99, представляющего собой Ile, Ser или Trp; положения 102, представляющего собой Trp, Thr, Ser, Arg или Asp; положения 103, представляющего собой Trp; и положения 104, представляющего собой Ser, Lys, Arg или Val.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит Val или Ile в положении 45; Gly в положении 47; Arg в положении 49; Arg в положении 95; Ser в положении 97; Ser в положении 99; Thr, Ser или Arg в положении 102; Trp в положении 103; и/или Lys или Arg в положении 104.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 91-95. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СН3 содержит аминокислоты 45-49 и/или аминокислоты 95-104 любой из SEQ ID NO: 91-95.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом, согласно данному изобретению, имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает набор положений 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным СН2-доменом содержит аминокислоты 45-49 и/или аминокислоты 95-104, как указано в любой из SEQ ID NO: 91-95.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 225-228. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 225-228, но в которой одна или две аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 229-233. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 229-223, но в которой одна аминокислота замещена или в которой две аминокислоты замещены. В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый

рецептор, содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 229-233, но в которой три, четыре или пять аминокислот замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит аминокислоты 45-104 любой из SEQ ID NO: 91-95. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 45-104 любой из SEQ ID NO: 91-95.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 91-95. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 91-95 без первых трех аминокислот "РСР" на аминотерминальном конце. В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 91-95 или любой из SEQ ID NO: 91-95, что определено без первых трех аминокислот "РСР" на аминотерминальном конце.

<u>Иллюстративные полипептиды, содержащие модифицированные домены CH3 или CH2</u>

Полипептиды, содержащий модифицированный СН3-домен или СН2 согласно данному изобретению, может быть присоединен к другому домену Fc области. В изобретения некоторых вариантах осуществления данного полипептид модифицированным СН3-доменом, согласно данному изобретению, может быть присоединен к СН2-домену, который может представлять собой встречающийся в природе СН2-домен или вариант СН2-домена, обычно на С-терминальном конце СН2домена. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным СН2-доменом, согласно данному изобретению, присоединяется к домену СН3, который может представлять собой встречающийся в природе СН3-домен или вариант домена СН3, обычно на N-терминальном конце домена СН3.В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен, присоединенный к домену СН3, или полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, присоединенный к домену СН2, дополнительно содержит частичную или полную шарнирную область антитела, что приводит к формату, в котором полипептид с модифицированным СН3-доменом или

полипептид с модифицированным СН2-доменом является частью Fc области, имеющей частичную или полную шарнирную область. Шарнирная область может быть из любого подкласса или изотипа иммуноглобулина. Иллюстративным шарниром иммуноглобулина является шарнирная область IgG, такая как шарнирная область IgG1, аминокислотная последовательность шарнира IgG1 человека EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 234). В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, который может иметь Fc формат, содержащий шарнир или частичную шарнирную область, дополнительно присоединяется к другому фрагменту, Fab фрагменту, таким образом генерируя слияние "Гс фрагмент, например, связывающийся с трансферриновым рецептором - Fab фрагмент". В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанное слияние "Fc фрагмент, связывающийся с Fab фрагмент" трансферриновым рецептором содержит полипептид модифицированным СН3-доменом или полипептид с модифицированным доменом СН2, шарнирную область и Fab фрагмент. Fab фрагмент может представлять собой любую представляющую интерес, например, терапевтическую неврологическую мишень, мишень, при этом Fab доставляется к мишени путем трансцитоза гематоэнцефалический барьер, опосредованного связыванием полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен, или полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен, с трансферриновым рецептором.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент, соединенный с полипептидом, связывающим трансферриновый рецептор, может связываться с тау-белком (*например*, тау-белком человека) или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент может связываться с фосфорилированным тау-белком, нефосфорилированным тау-белком, сплайсированной изоформой тау-белка, укороченным с N-конца тау-белком, укороченным с С-конца тау-белком и/или его фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент, соединенный с полипептидом, связывающим трансферриновый рецептор, может связываться с белком бета-секретазы 1 (BACE1) (например, белком BACE1 человека) или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент может связываться с одной или большим количеством сплайсинговых изоформ белка BACE1 или его фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент, соединенный с полипептидом, связывающим трансферриновый рецептор, может связываться с тригерным рецептором, экспрессированным на белке миелоидных клеток 2

(TREM2) (например, на белке TREM2 человека), или его фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент, соединенный с полипептидом, связывающим трансферриновый рецептор, может связываться с белком альфа-синуклеином (например, белком альфа-синуклеином человека) или его фрагментом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fab фрагмент может связываться с мономерным альфа-синуклеином, олигомерным альфа-синуклеином, фибриллами альфа-синуклеина, растворимым альфа-синуклеином и/или их фрагментами.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения слияние Fc - Fab, содержащее полипептид с модифицированным СН2-доменом или модифицированным СНЗ-доменом, согласно данному изобретению, представляет собой субъединицу димера. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер представляет собой гетеродимер. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер представляет собой гомодимер. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер содержит один полипептид, который связывается с трансферриновым рецептором, то есть, является одновалентным для связывания трансферринового рецептора . В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер содержит второй полипептид, который связывается с трансферриновым рецептором. Второй полипептид может содержать такой же полипептид модифицированным СН3-доменом (или полипептид модифицированным доменом CH2), присутствующий в слиянии Fc-Fab, для обеспечения двухвалентного связывающего гомодимера, или второй полипептид модифицированным СН3-доменом (или полипептид с модифицированным СН2-доменом) по данному изобретению может обеспечить второй сайт связывания трансферринового рецептора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер содержит первую субъединицу, в которой содержится полипептид с модифицированным с модифицированным СН2-доменом, и вторую СН3-доменом или полипептид субъединицу, содержащую СН2 и СН3-домены, при этом ни один из них не связывает трансферриновый рецептор.

Полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, также может быть слит с другим представляющим интерес полипептидом, отличным от Fab. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, может быть слит с другим полипептидом, который предпочтительно нацеливать на клетку, экспрессирующую трансферриновый рецептор, или доставлять через эндотелий, *например*, гематоэнцефалический барьер,

путем трансцитоза. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, является слитым с растворимым белком, *например*, внеклеточным доменом рецептора или фактором роста, цитокином или ферментом.

В других вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, может быть слит с пептидом или белком, пригодным для очистки белка, *например*, полигистидином, метками эпитопа, *например*, FLAG, с-Мус, гемагглютининовыми метками и тому подобное, глутатион-S-трансферазой (GST), тиоредоксином, белком А, белком G или мальтозосвязывающим белком (MBP). В некоторых случаях пептид или белок, с которым слит полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, может содержать сайт расщепления протеазой, такой как сайт расщепления для фактора Ха или тромбина.

Полипептиды, связывающиеся с трансферриновым рецептором, согласно данному изобретению, могут иметь широкий диапазон показателей аффинности связывания, например, в зависимости от формата полипептида. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения, полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен или модифицированный СН2-домен, имеет аффинность связывания с трансферриновым рецептором в диапазоне от 1 пМ до 10 мкМ. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аффинность может быть измерена в одновалентном формате. В других вариантах осуществления данного изобретения аффинность может быть измерена в двухвалентном формате, например, в качестве димера, содержащего слитый белок "полипептид-Fab".

Способы анализа аффинности связывания, кинетики связывания и перекрестной реактивности известны в данной области техники. Эти способы включают, но не ограничиваются ими, твердофазные анализы связывания (например, ИФА), иммунопреципитацию, поверхностный плазмонный резонанс (например, BiacoreTM (GE Healthcare, Piscataway, NJ)), анализы кинетического исключения (например, KinExA®), проточную цитометрию, сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), биослойную интерферометрию (например, Octet® (FortéBio, Inc., Menlo Park, CA)), и анализ Вестерн-блот. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения ИФА применяют для определения аффинности связывания и/или перекрестной реактивности. Способы проведения ИФА известны в данной области техники и также описаны в разделе "Примеры" ниже.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения поверхностный плазмонный резонанс (SPR) применяют для определения аффинности связывания,

кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анализы кинетического исключения применяют для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения биослойную интерферометрию применяют для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности.

<u>Дополнительные мутации в Fc области, которая содержит полипептид с</u> <u>модифицированным CH3-доменом или CH2-доменом</u>

Предлагаемый в данном изобретении полипептид, который модифицирован для связывания трансферринового рецептора и инициирования транспорта через ГЭБ, может также содержать дополнительные мутации, *например*, чтобы повысить стабильность в сыворотке, модулировать эффекторную функцию, влиять на гликозилирование, снижать иммуногенность у людей и/или обеспечивать гетеродимеризацию полипептида с помощью "выступов" и " отверстий".

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид согласно данному изобретению имеет идентичность аминокислотной последовательности, составляющую по меньшей мере около 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с соответствующей Fc-областью дикого типа (например, Fc-областью IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека).

Полипептид согласно данному изобретению может также иметь другие мутации, введенные вне указанных наборов аминокислот, например, чтобы влиять на гликозилирование, увеличивать период полужизни в сыворотке или, для СНЗ доменов, чтобы обеспечить гетеродимеризацию с помощью "выступов" и "отверстий" полипептидов, которые содержат модифицированный СН3-домен. Обычно способ включает введение выпуклости ("выступа") на поверхности контакта первого полипептида и соответствующей полости ("отверстия") на поверхности контакта второго полипептида, так что выпуклость может быть расположена в полости таким образом, чтобы способствовать образованию гетеродимера и препятствовать образованию гомодимера. Выпуклости конструируют путем замены небольших аминокислотных боковых цепей на поверхности контакта первого полипептида более крупными боковыми цепями (например , тирозином или триптофаном). Компенсационные полости идентичного или сходного размера с выпуклостями создаются на поверхности контакта второго полипептида путем замены крупных аминокислотных боковых цепей меньшими (например, аланином или треонином). Такие дополнительные мутации находятся в положении в полипептиде, которое не оказывает отрицательного влияния на связывание модифицированного СН3домена или СН2 с трансферриновым рецептором.

В одном иллюстративном варианте осуществления подхода к димеризации с помощью "выступов" и "отверстий", положение, соответствующее положению 139 последовательности SEQ ID NO: 1 первой субъединицы Fc полипептида, подлежащей димеризации, имеет триптофан вместо нативного треонина, а вторая субъединица Fc полипептида димера имеет валин в положении, соответствующем положению 180 последовательности SEQ ID NO: 1 вместо нативного тирозина. Вторая субъединица Fc полипептида может дополнительно содержать замену, в которой нативный треонин в положении, соответствующем положению 139 последовательности SEQ ID NO: 1, замещен серином, а нативный лейцин в положении, соответствующем положению 141 последовательности SEQ ID NO:: 1, замещен аланином.

Полипептид, описанный в данном документе, также может быть сконструирован так, чтобы он содержал другие модификации для гетеродимеризации, *например*, электростатическое конструирование остаточных контактов на поверхности раздела СН3-СН3, которые являются модификациями природно-заряженных или гидрофобных участков.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения могут быть введены модификации для увеличения времени полужизни в сыворотке. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fc-область содержит CH2-домен, содержащий Туг в положении, соответствующем положению 25 последовательности SEQ ID NO: 1, Thr в положении, соответствующем 27 последовательности SEQ ID NO: 1, и Glu в положении, соответствующем положению 29 последовательности SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения мутация, *натример*, замену вводят в одно или большее количество положений 17-30, 52-57, 80-90, 156-163 и 201-208, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения одно или большее количество мутаций вводят в положения 24, 25, 27, 28, 29, 80, 81, 82, 84, 85, 87, 158, 159, 160, 162, 201, 206, 207 или 209, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения мутации вводят в одно, два или три из положений 25, 27 и 29, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные мутации представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, дополнительно содержит мутации M25Y, S27T и T29E. В некоторых вариантах осуществления данного

изобретения мутации вводят в одно или два из положений 201 и 207, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные мутации представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипентид, как описано в данном документе, дополнительно содержит мутацию N207S с или без M201L. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит замену в одном, двух или во всех трех положениях T80, E153 и N207, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В вариантах осуществления данного изобретения указанные некоторых представляют собой T80Q и N207A. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит мутации Т80А, E153A и N207A. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит замены в положениях Т23 и М201, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит мутации T23Q и M201L. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит замены в положениях М201 и N207, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит замены M201L и N207S. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, содержит замену N207S или N207A.

а. Эффекторные функции Fc

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Fc-область, содержащая модифицированный СН2-домен или СН3-домен, имеет эффекторную функцию, то есть они обладают способностью индуцировать определенные биологические функции при связывании с Fc рецептором, экспрессированным на эффекторной клетке, которая опосредует эффекторную функцию. Эффекторные клетки включают, но не ограничиваются ими, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты, В-клетки, крупные гранулярные лимфоциты, клетки Лангерганса, клетки естественные киллеры (NK) и цитотоксические Т-клетки.

Примеры эффекторных функций антител включают, но не ограничиваются ими, связывание С1q и комплемент-зависимую цитотоксичность (КЗЦ), связывание Fc рецептора, антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ), антитело-зависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (АЗКФ), снижение уровня

экспрессии рецепторов клеточной поверхности (*например*, рецептора В-клеток) и активацию В-клеток. Эффекторные функции могут варьироваться в зависимости от класса антител. Например, нативные антитела IgG1 и IgG3 человека могут вызывать активности АЗКЦ и КЗЦ при связывании с соответствующим Fc рецептором, присутствующим на клетке иммунной системы; а нативные IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека могут вызывать функции АЗКФ при связывании с соответствующим Fc рецептором, присутствующим на иммунной клетке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, может включать в себя дополнительные модификации, которые снижают эффекторную функцию. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен или СН3-домен по данному изобретению, может включать дополнительные модификации, которые усиливают эффекторную функцию.

Иллюстративные мутации Fc полипептида, которые модулируют эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются этим, замены в CH2-домене, *например*, в положениях, соответствующих положениям 7 и 8 последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные замены в модифицированном CH2-домене содержат Ala в положениях 7 и 8 последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные замены в модифицированном домене CH2 включают Ala в положениях 7 и 8 и Gly в положении 102 последовательности SEQ ID NO: 1.

Дополнительные мутации Fc полипептида, которые модулируют эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, одну или большее количество замен в положениях 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 (схема нумерации EU, которая соответствует положениям 11, 38, 42, 43, 70, 100 и 102, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1). Иллюстративные замены (пронумерованные по схеме нумерации EU) включают в себя следующие: положение 329 может иметь мутацию, при которой пролин замещается глицином или аргинином или аминокислотным остатком, достаточно большим для разрушения поверхности контакта Fc / Fc□ рецептора, образовавшейся между пролином 329 Fc и остатками триптофана Trp 87 и Trp 110 Fc□RIII. Дополнительные иллюстративные замены включают S228P, E233P, L235E, N297A, N297D и P331S. Также могут присутствовать множественные замены, , *например*, L234A и L235A Fc области IgG1 человека; L234A, L235A и P329G Fc области IgG1 человека; S228P и L235E Fc области IgG4 человека; L234A и G237A Fc области IgG2 человека; L234A, L235A и G237A Fc области IgG1 человека; L234A,

L235A, G237A и E318A Fc области IgG4 человека; и S228P и L236E Fc области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид по данному изобретению может иметь одну или большее количество аминокислотных замен, которые модулируют АЗКЦ, *например*, замены в положениях 298, 333 и/или 334 Fc области, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, может иметь одну или большее количество аминокислотных замен, которые увеличивают или уменьшают АЗКЦ, или может иметь мутации, которые изменяют связывание С1q и/или КЗЦ.

а. Иллюстративные полипептиды, содержащие дополнительные мутации

Полипептид, как описано в данном документе (*натример*, любой из клонов СН3С.35.20.1, СН3С.35.23.2, СН3С.35.23.3, СН3С.35.23.4, СН3С.35.21.17.2, СН3С.35.23, СН3С.35.21, СН3С.35.20.1.1, СН3С.23.2.1 и СН3С.35.23.1.1), может содержать дополнительные мутации, включая мутацию "выступа" (нап*ример*, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации "отверстия" (*например*, Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (нап*ример*, L7A, L8A и/или P102G (нап*ример*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и/ или мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1 или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1), может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию "выступа".

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1), может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как

пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию "выступа" и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 95% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию "выступа" и мутации, которые повышают стабильность в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1), может иметь мутацию "выступа" (*например*, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть

модифицирован, чтобы иметь мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, а также мутации, которые повышают стабильность в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1), может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутации "отверстия".

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1), может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A)), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутации "отверстия" и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (*например*, любой из клонов CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, CH3C.23.2.1 и CH3C.35.23.1.1), может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых

вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутации "отверстия" и мутации, которые повышают стабильность в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе (например, любой из клонов СН3С.35.20.1, СН3С.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2, CH3C.35.23, CH3C.35.21, CH3C.35.20.1.1, СН3С.23.2.1 и СН3С.35.23.1.1), может иметь мутации "отверстия" (например, Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, (i) M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-95, 236-299 и 422-435, может быть модифицирован, чтобы иметь мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, а также мутации, которые повышают стабильность в сыворотке.

а. Клон СН3С.35.20.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:349. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 349.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 350 или 351. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет

последовательность SEQ ID NO: 350 или 351.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 352. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 352.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 485. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 485.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 353 или 354. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.20.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 353 или 354.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без

М201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 486 или 487. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:486 или 487.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 355. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 355.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 356 или 357. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 356 или 357.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 358. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 358.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей

мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:488. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 488.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 359 или 360. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 359 или 360.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 489 или 490. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 489 или 490.

а. Клон СН3С.35.23.2

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 361. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 361.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 362 или 363. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 362 или 363.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 364. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 364.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 492. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 492.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 365 или 366. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 365 или 366.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 493 или 494. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 493 или 494.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 367. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 367.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.2 может иметь мутации "отверстия" (*например*, Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 368 или 369. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 368 или 369.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 370. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 370.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 495. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 495.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 371 или 372. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 371 или 372.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 496 или 497. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ

ID NO: 496 или 497.

а. Клон СН3С.35.23.3

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 373. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 373.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 374 или 375. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 374 или 375.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1),и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 376. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 376.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 499. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 499.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 377 или 378. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.3 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 377 или 378.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.3 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 500 или 501. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.3 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 500 или 501. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.3 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 379. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 379.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 380 или 381. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон

CH3C.35.23.3 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 380 или 381.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 382. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 382.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 502. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 502.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 383 или 384. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 383 или 384.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию

(например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 503 или 504. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 503 или 504.

а. Клон СН3С.35.23.4

- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 385. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 385.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 386 или 387. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 386 или 387.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности меньшей мере 95% идентичности или ПО последовательностью SEQ ID NO: 388. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.4 с мутацией "выступа"

- и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 388.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.4 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с SEO ID NO: 506. В последовательностью некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.4 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 506.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 389 или 390. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23.4 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность В сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 389 или 390.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 507 или 508. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией

- "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 507 или 508.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 391. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 391.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 392 или 393. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 392 или 393.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 394. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 394.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85%

идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 509. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 509.

- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 395 или 396. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 395 или 396.
- В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повішаюют стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 510 или 511. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 510 или 511.

а. Клон СН3С.35.21.17.2

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере

90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 397. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 397.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 398 или 399. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 398 или 399.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 может иметь мутацию "выступа" (*например*, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 400. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 400.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 513. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 513.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке

(например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 401 или 402. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 401 или 402.

В изобретения некоторых вариантах осуществления данного клон СН3С.35.21.17.2 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 514 или 515. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 514 или 515.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 403. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 403.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 может иметь мутации "отверстия" (например, Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 404 или 405. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 404

или 405.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, М25Y, \$27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID В некоторых вариантах осуществления данного изобретения NO: 406. СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 406.

В некоторых вариантах осуществления изобретения данного клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID некоторых вариантах осуществления данного изобретения В СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 516.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 407 или 408. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 407 или 408.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как

пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 517 или 518.В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 517 или 518.

а. Клон СН3С.35.23

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 409. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 409.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 410 или 411. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 410 или 411.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 412. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 412.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S

с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 520. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 520.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 413 или 414. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 413 или 414.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 521 или 522. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 521 или 522.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 415. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 415.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано

со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 416 или 417. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 416 или 417.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 418.В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 418.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 523. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 523.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 419 или 420. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями,

которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 419 или 420.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 524 или 525. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 524 или 525.

а. Клон СН3С.35.21

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 436. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 436.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:437 или 438. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 437 или 438.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%

идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 439. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 439.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 527. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 527.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 440 или 441. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СН3С.35.21 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 440 или 441.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 528 или 529. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 528 или 529.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано

со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 442. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 442.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 443 или 444. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 443 или 444.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:445. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 445.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 530. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 530.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со

ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 446 или 447. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 446 или 447.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 531 или 532. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 531 или 532.

а. Клон СН3С.35.20.1.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 448. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 448.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 449 или 450. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет

последовательность SEQ ID NO: 449 или 450.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 451. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 451.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 534. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 534.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 452 или 453. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 452 или 453.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без

М201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 535 или 536. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 535 или 536.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 454. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 454.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 455 или 456. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 455 или 456.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 457. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 457.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей

мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 537. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 537.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 458 или 459. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 458 или 459.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 538 или 539. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 538 или 539.

а. Клон СН3С.35.23.2.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 460. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 460.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 461 или 462. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 461 или 462.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 463. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 463.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 541. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 541.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 464 или 465. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 464 или 465.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 542 или 543. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 542 или 543.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 466. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 466.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 467 или 468. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 467 или 468.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 469. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 469.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 544. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 544.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 470 или 471. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 470 или 471.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутации "отверстия" (например, Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 545 или 546. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ

ID NO: 545 или 546.

а. Клон СН3С.35.23.1.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 472. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией "выступа" имеет последовательность SEQ ID NO: 472.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 473 или 474. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 473 или 474.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 475. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 475.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 548. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 548.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию "выступа" (*например*, T139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 476 или 477. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 476 или 477.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 549 или 550. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией "выступа", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 549 или 550.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 478. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" имеет последовательность SEQ ID NO: 478.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L7A, L8A и/или P102G (*например*, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 479 или 480. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон

CH3C.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 479 или 480.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 478. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 481.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (*например*, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 551. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 551.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации "отверстия" (например, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 482 или 483. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 482 или 483.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации "отверстия" (*например*, T139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию

(например, L7A, L8A и/или P102G (например, L7A и L8A), как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые повышают стабильность в сыворотке (например, N207S с или без M201L, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 552 или 553. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями "отверстия", мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые повышают стабильность в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 552 или 553.

VI. КОНЪЮГАТЫ

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, содержит модифицированный СН2-домен или СН3-домен согласно данному изобретению, который связан посредством линкера с агентом, например, с агентом, который должен быть интернализован в клетку и/или для трансцитоза через эндотелий, такой как гематоэнцефалический барьер. Указанный линкер может представлять собой любой линкер, пригодный для присоединения агента к полипептиду. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная связь может ферментативно расщепляться. В определённых вариантах осуществления данного изобретения укзанная связь расщепляется ферментом, присутствующим в центральной нервной системе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, указанный линкер представляет собой пептидный линкер. Пептидный линкер может быть сконфигурирован так, что ОН позволяет вращать агент полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, относительно друг друга; и/или является устойчив к расщеплению протеазами. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный линкер может представлять собой гибкий линкер, например, содержащий аминокислоты, такие как Gly, Asn, Ser, Thr, Ala и тому подобное. Такие линкеры разработаны с применением известных параметров. Например, линкер может иметь повторы, такие как повторы Gly-Ser.

В различных вариантах осуществления данного изобретения конъюгаты могут быть получены с применением хорошо известных химических перекрестносшивающих реагентов и протоколов. Например, существует большое количество химических перекрестносшивающих агентов, которые известны специалистам в данной области техники и пригодны для сшивания полипептида с представляющим интерес агентом. Например, перекрестносшивающие агенты представляют собой гетеробифункциональные

перекрестносшивающие агенты, которые можно применять для поэтапного связывания молекул. Гетеробифункциональные перекрестносшивающие линкеры дают возможность разрабатывать более специфические способы связывания для конъюгирующих белков, тем самым уменьшая возникновение нежелательных побочных реакций, таких как гомополимерные полимеры. В данной области техники известно широкое разнообразие гетеробифункциональных перекрестносшивающих Nлинкеров, включая гидроксисукцинимид (NHS) водорастворимый Nили его аналог гидроксисульфосукцинимид (сульфо-NHS), сукцинимидил 4-(N-малеимидометил) циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), сложный эфир m-малеимидобензоил-Nгидроксисукцинимида (MBS); N-сукцинимидил (4-йодоацетил)аминобензоат (SIAB), 4-(р--малеимидофенил)бутират (SMPB), 1-этил-3-(3сукцинимидил диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид (EDC); 4-сукцинимидилоксикарбонил-аметил-а-(2-пиридилдитио)толуол (SMPT), N-сукцинимидил-3пиридилдитио)пропионат (SPDP) И сукцинимидил 6-[3-(2пиридилдитио)пропионат [гексаноат (LC-SPDP). Те перекрестносшивающие агенты, которые имеют N-гидроксисукцинимидные фрагменты, могут быть получены в виде аналогов N-гидроксисульфосукцинимида, которые обычно имеют более высокую растворимость в воде. Кроме того, те перекрестносшивающие агенты, которые имеют дисульфидные мостики в связывающей цепи, могут быть альтернативно синтезированы в качестве алкильных производных, чтобы уменьшить уровень расщепления линкера іп vivo. В дополнение к гетеробифункциональным перекрестносшивающим агентам существует ряд других перекрестносшивающих агентов, включая гомобифункциональные и фотореактивные перекрестносшивающие агенты. Дисукцинимидил субкрат (DSS), бисмалеимидогексан (BMH) и диметилпимелимидат 2HCl (DMP) являются примерами пригодных гомобифункциональных перекрестносшивающих агентов, а бис-[В-(4азидосалициламидо)этил]дисульфид (BASED) И N-сукцинимидил-6 (4'-азидо-2'нитрофениламино) гексаноат (SANPAH) являются примерами пригодных фотореактивных ерекрестносшивающих агентов.

Представляющий интерес агент может представлять собой терапевтический агент, включая цитотоксический агент, молекулу ДНК или РНК, химический фрагмент и тому подобное. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный агент может представлять собой пептид или низкомолекулярный терапевтический или визуализирующий агент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения малая молекула составляет менее 1000 Да, менее 750 Да или менее 500 Да.

Представляющий интерес агент может быть связан с N-концевой или С-концевой

областью полипептида, связывающего трансферриновый рецептор, или может быть присоединен к любой области полипептида, если агент не препятствует связыванию полипептида, связывающего трансферриновый рецептор, с трансферриновым рецептором.

СПОСОБЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ FC ПОЛИПЕПТИДОВ ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСФЕРРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА

В дополнительном аспекте предлагаются способы конструирования полипептида, содержащего СН2-домен или СН3-домен, для придания специфичности связывания осуществления трансферринового рецептора. В некоторых вариантах данного изобретения модификация полипептида, содержащего СНЗ-домен, включает замену различных аминокислот в наборе (i) и/или наборе (ii), как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает модификацию полинуклеотида, который кодирует полипептид с СН3-доменом, для включения аминокислотных замен в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или всех девяти положениях в наборе доменов СН3 (i). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает модификацию полинуклеотида, который кодирует полипептид с СН3-доменом, для включения аминокислотных замен в трех, четырех, пяти, шести, семи или всех восьми положениях в наборе доменов СН3 (ii). Аминокислоты, введенные в желаемые положения, могут быть получены путем генерирования библиотеки рандомизации или частичной рандомизации для полипептидов, содержащих СН3-домен, с аминокислотными заменами в различных положениях набора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, содержащий СН3-домен, является мутированным в контексте Fc области, которая может содержать или не содержать часть или всю полноразмерную шарнирную область.

В одном аспекте СН3-домен сконструирован так, чтобы специфически связываться с трансферриновым рецептором, путем (а) модификации полинуклеотида, который кодирует СН3-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в положениях 153, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 186, 187, 188, 189, 194, 197 или 199, как пронумеровано со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1; и (b) экспрессии и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН3-домен модифицирован так, чтобы иметь по меньшей мере 5 замен в положениях 153, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 186, 187, 188, 189, 194, 197 или 199, при этом указанные замены выбирают из следующих замен:Тгр, Туг, Leu или Gln в положении 153; Leu, Туг, Меt или Val в положении 157; Leu, Thr, His или Pro в положении 159; Val или кислотная

аминокислота в положении 160; ароматическая аминокислота, *нспример*, Trp в положении 161; Val, Ser или Ala в положении 162; Ser в положении 163; Ser, Thr, Gln или Phe в положении 164; Gln, Phe или His в положении 165; Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 186; Arg, Gly или Pro в положении 187; Glu в положении 188; Thr или кислотная аминокислота в положении 189; Trp, Tyr, His или Phe в положении 194; Thr, Glu или Lys в положении 197; и Trp или Gly в положении 199.

В другом аспекте СН3-домен сконструирован так, чтобы специфически связываться с трансферриновым рецептором, путем (а) модификации полинуклеотида, который кодирует СН3-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в положениях 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213, как пронумеровано со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1; и (b) экспрессии и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН3-домен модифицирован так, чтобы иметь по меньшей мере 5 замен в положениях 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213, при этом указанные замены выбирают из следующих замен: Phe или Ile в положении 118; Asp, Glu, Gly, Ala или Lys в положении 119; Туг, Met, Leu, Ile или Asp в положении 120; Thr или Ala в положении 122; Gly в положении 210; Phe в положении 211; в положении 212; и Asp в положении 213.

Полипептиды, содержащие СН2-домен, могут быть аналогичным образом сконструированы для связывания трансферринового рецептора путем введения мутаций в любом месте от трех до всех положений набора (iii), набора (iv), набора (v) или набора (vi) СН2-домена. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения модификация полипептида, содержащего СН2-домен, включает замену различных аминокислот в наборе (iii), наборе (iv), наборе (v) и/или наборе (vi), как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает модификацию полинуклеотида, который кодирует полипептид с СН2доменом, для включения аминокислотных замен в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или всех девяти положениях в наборе доменов СН2 (ііі). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает модификацию полинуклеотида, который кодирует полипептид с СН2-доменом, для включения аминокислотных замен в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или всех десяти положениях в наборе доменов CH2 (iv). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает модификацию полинуклеотида, который кодирует полипептид с СН2-доменом, для включения аминокислотных замен в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или всех десяти положениях в наборе доменов СН2 (v). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает модификацию полинуклеотида, который кодирует полипептид с СН2-доменом, для включения аминокислотных замен в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или всех девяти положениях в наборе доменов СН2 (vi). Аминокислоты, введенные в желаемые положения, могут быть получены путем рандомизации или частичной рандомизации для генерирования библиотеки полипептидов, содержащих СН2-домен, с аминокислотными заменами в различных положениях набора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, содержащий СН2-домен, является мутированным в контексте Fc области, которая может содержать или не содержать часть или всю полноразмерную шарнирную область.

В одном аспекте СН2-домен сконструирован так, чтобы специфически связываться с трансферриновым рецептором, путем (а) модификации полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в положениях 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63, как пронумеровано со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1; и (b) экспрессии и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН2-домен модифицирован так, чтобы иметь по меньшей мере 5 замен в положениях 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63, при этом указанные замены выбирают из следующих замен: Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр в положении 47; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг в положении 49; Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe в положении 56; Arg, Ser, Ala или Gly в положении 58; Туг, Тгр, Arg или Val в положении 59; Glu в положении 60; Тгр или Туг в положении 61; Gln, Туг, His, Ile, Phe, Val или Asp в положении 62; и Leu, Тгр, Arg, Asn, Туг или Val в положении 63.

В другом аспекте СН2-домен сконструирован так, чтобы специфически связываться с трансферриновым рецептором, путем (а) модификации полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в положениях 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72, как пронумеровано со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1; и (b) экспрессии и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН2-домен модифицирован так, чтобы иметь по меньшей мере 5 замен в положениях 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72, при этом замены выбирают из следующих замен: Pro, Phe, Ala, Met или Asp в положении 39; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Туг в положении 40; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu в положении 41; Pro, Val, Ala, Thr или Asp в положении 42; Pro, Val или Phe в положении 43; Trp, Gln, Thr или Glu в положении 44; Glu, Val, Thr, Leu или Trp в

положении 68; Туг, His, Val или Asp в положении 70; положение 71 представляет собой Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val в положении 71; и положение 72 представляет собой Туг, Asn, Asp, Ser или Pro.

В дополнительном аспекте СН2-домен сконструирован так, чтобы специфически связываться с трансферриновым рецептором, путем (а) модификации полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в положениях 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73, как пронумеровано со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1; и (b) экспрессии и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН2-домен модифицирован так, чтобы иметь по меньшей мере 5 замен в положениях 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73, при этом указанные замены выбирают из следующих замен: Val или Asp в положении 41; Pro, Met или Asp в положении 42; Pro или Trp в положении 43; Arg, Trp, Glu или Thr в положении 44; Met, Туг или Trp в положении 45; Leu или Trp в положении 65; Thr, Val, Ile или Lys в положении 66; Ser, Lys, Ala или Leu в положении 67; His, Leu или Pro в положении 69; и Val или Trp в положении 73.

В другом аспекте СН2-домен сконструирован так, чтобы специфически связываться с трансферриновым рецептором, путем (а) модификации полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в положениях 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104, как пронумеровано со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1; и (b) экспрессии и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный СН2-домен модифицирован так, чтобы иметь по меньшей мере 5 замен в положениях 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104, при этом указанные замены выбирают из следующих замен: Trp, Val, Ile или Ala в положении 45; Trp или Gly в положении 47; Туг, Arg или Glu в положении 49; Ser, Arg или Gln в положении 95; Val, Ser или Phe в положении 97; Ile, Ser или Trp в положении 99; Trp, Thr, Ser, Arg или Asp в положении 102; Trp в положении 103; и Ser, Lys, Arg или Val в положении 104.

Полипептиды, содержащие мутированные домены СН3 и/или СН2, могут быть экспрессированы с помощью любого количества систем. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения мутантные полипептиды экспрессируются в дисплейной системе. В других иллюстративных вариантах осуществления данного изобретения мутантные полипептиды экспрессируются в виде растворимых полипептидов, которые секретируются из клетки-хозяина. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения экспрессионная система представляет собой дисплейную систему, например, вирусную дисплейную систему, дисплейную систему клеточной поверхности, такую как дрожжевую дисплейную систему, дисплейную систему мРНК или полисомную дисплейную систему. Библиотеку скринируют с помощью известной методологии для идентификации агентов, связывающих трансферриновый рецептор, и которая может быть дополнительно охарактеризована для определения кинетики связывания. После этого можно ввести дополнительные мутации в выбранные клоны, либо в положениях в исходном наборе аминокислот (набор (i) или набор (ii)); либо в других положениях за пределами набора, которые также присутствуют в области связывания выбранного клона.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ, ВЕКТОРЫ И КЛЕТКИ-ХОЗЯЕВА

Модифицированные полипептиды, связывающие трансферриновый рецептор, как описано в данном документе, обычно получают с помощью рекомбинантных способов. Соответственно, в некоторых аспектах данного изобретения предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любой из полипептидов, содержащих полипептиды, как описано в данном документе, и клетки-хозяева, в которые введены нуклеиновые кислоты, которые применяются для репликации нуклеиновых кислот, кодирующих полипептид, и/или для экспрессии полипептидов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку, например, клетку человека.

В другом аспекте предлагаются полинуклеотиды, которые содержат нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептиды, описанные в данном документе. Полинуклеотиды могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полинуклеотид представляет собой ДНК. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный полинуклеотид представляет собой кДНК. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полинуклеотид представляет собой РНК.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полинуклеотид включен в конструкцию нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная конструкция представляет собой реплицируемый вектор. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный вектор выбирают из плазмиды, вирусного вектора, фагемиды, дрожжевого хромосомного вектора и неэпизомального вектора млекопитающих.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный

полинуклеотид является функционально связанным с одной или большим количеством регуляторных нуклеотидных последовательностей в экспрессионной конструкции. В одной серии вариантов осуществления данного изобретения экспрессионные конструкции для нуклеиновых кислот адаптированы для применения в качестве библиотеки поверхностной экспрессии. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная библиотека адаптирована для поверхностной экспрессии в дрожжах. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная библиотека адаптирована для поверхностной экспрессии в фаге. В другой серии вариантов осуществления данного изобретения экспрессионные конструкции для нуклеиновых кислот адаптированы для экспрессии полипептида в системе, которая позволяет выделять полипептид в миллиграммах или граммах. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная систему представляет собой экспрессионную систему клеток млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления указанная система представляет собой экспрессионную систему дрожжевых клеток.

Экспрессионные носители для продуцирования рекомбинантного полипептида включают плазмиды и другие векторы. Например, пригодные векторы включают плазмиды следующих типов: плазмиды, производные от рВR322, плазмиды, производные от pEMBL, плазмиды, производные от pEX, плазмиды, производные от pBTac, и плазмиды, производные от pUC, для экспрессии в прокариотических клетках, таких как E. coli. Векторы, производные от pcDNAI/amp, pcDNAI/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo и pHyg, являются примерами экспрессионных векторов млекопитающих, пригодных для трансфекции эукариотических клеток. В альтернативном варианте для временной экспрессии полипептидов в эукариотических клетках можно применять производные вирусов, таких как вирус бычьей папилломы (BPV-1) или вирус Эпштейна-Барр (рНЕВо, производный от pREP, и p205). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения может быть желательным рекомбинантный экспрессировать полипептид c помощью бакуловирусной экспрессионной системы. Примеры таких бакуловирусных экспрессионных систем включают векторы, производные от pVL (такие как pVL1392, pVL1393 и pVL941), векторы, производные от pAcUW (такие как pAcUW1), и векторы, производные от pBlueBac. Дополнительные экспрессионные системы включают аденовирусные экспрессионные системы, экспрессионные системы с аденоассоциированным вирусом и другие вирусные экспрессионные системы.

Векторы могут быть трансформированы в любую пригодную клетку-хозяина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные клетки-хозяева,

например, клетки бактерии или дрожжей, могут быть адаптированы для применения в качестве библиотеки поверхностной экспрессии. В некоторых клетках указанные векторы экспрессируются в клетках-хозяевах для экспрессии относительно больших количеств полипептида. Такие клетки-хозяева включают клетки млекопитающих, клетки дрожжей, клетки насекомых и прокариотические клетки. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные клетки представляют собой клетки млекопитающих, такие как клетки яичника китайского хомяка (СНО), клетки почки детеныша хомячка (ВНК), клетки NS0, клетки Y0, клетки HEK293, клетки COS, клетки Vero или клетки HeLa.

Клетку-хозяина, трансфицированную экспрессионным вектором, кодирующим полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, можно культивировать в соответствующих условиях, чтобы обеспечить экспрессию указанного полипептида. Указанные полипептиды могут секретироваться и выделяться из смеси клеток и среды, содержащей такие полипептиды. В альтернативном варианте указанный полипептид можно удерживать в цитоплазме или в мембранной фракции, клетки можно собирать и лизировать, а полипептид можно выделять с помощью желаемого способа.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

Полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, согласно данному изобретению, можно применять с терапевтической целью по многим показаниям. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, применяют для доставки терапевтического агента к типу клеток-мишеней, который экспрессирует трансферриновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, можно применять для транспортировки терапевтического фрагмента через эндотелий, *например*, через гематоэнцефалический барьер, чтобы указанный терапевтический фрагмент мог быть поглощен головным мозгом.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, согласно данному изобретению, может применяться, например, конъюгированным с терапевтическим агентом, для доставки терапевтического агента для лечения неврологического нарушения, такого как заболевание головного мозга или центральной нервной системы (ЦНС). Иллюстративные заболевания включают болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, лобно-височную деменцию, сосудистую деменцию, деменцию с тельцами Леви, болезнь Пика, первичную возрастную тауопатию или прогрессирующий надъядерный паралич. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения

указанное заболевание может представлять собой тауопатию, прионное заболевание (такое как губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота, скрепи, синдром Крейтцфельда-Якоба, куру, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, хроническое истощающее заболевание и фатальная семейная бессонница), бульбарный паралич, болезнь двигательных нейронов или гетеродегенеративные нарушения нервной системы (такие как болезнь Канавана, болезнь Хантингтона, нейрональный цероид-липофусциноз, болезнь Александера, синдром Туретта, синдром Менкеса (болезнь курчавых волос), синдром Кокейна, синдром Халервордена-Спатца, болезнь Лафора, синдром Ретта, Леша-Нихана, гепатолентикулярная дегенерация, синдром атаксия Фридрейха, спинальная мышечная атрофия и синдром Унверрихта-Лундборга). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанное заболевание представляет собой инсульт или рассеянный склероз. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения пациент может не иметь симптомов, но имеет маркер, который является ассоциированным с заболеванием головного мозга или ЦНС. В некоторых вариантах изобретения осуществления данного предлагается применение связывающего трансферриновый рецептор, по данному изобретению, при изготовлении лекарственного средства для лечения неврологического нарушения.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, по данному изобретению, применяют для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения рак представляет собой первичный рак ЦНС, такой как глиома, мультиформная глиобластома, менингиома, астроцитома, акустическая неврома, хондрома, олигодендроглиома, медуллобластома, ганглиоглиома, шваннома, нейрофиброма, нейробластома, экстрадуральные, интрамедуллярные или интрадуральные опухоли. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения рак представляет собой твердую опухоль, или в других вариантах осуществления данного изобретения рак представляет собой нетвердую опухоль. Твердые раковые опухоли включают опухоли центральной нервной системы, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак кожи (включая базальноклеточную карциному, клеточную карциному, плоскоклеточную карциному и меланому), рак шейки матки, рак матки, рак легких, рак яичников, рак яичек рак щитовидной железы, астроцитому, глиому, рак поджелудочной железы, мезотелиомы, рак желудка, рак печени, рак толстого кишечника, рак прямой кишки, рак почки, включая нефробластому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, рак гортани, рак околоушной железы, рак желчных путей, рак эндометрия, аденокарциному, мелкоклеточные карциномы, нейробластомы, адренокортикальные карциномы, эпителиальные карциномы,

десмопластические мелкокруглоклеточные опухоли, эндокринные опухоли, опухоли семейства сарком Юинга, опухоли зародышевых клеток, гепатобластомы, гепатоцеллюлярные карциномы, нерабдомиосаркомные саркомы мягких тканей, периферические примитивные нейроэктодермальные остеосаркомы, опухоли, ретинобластомы и рабдомиосаркомы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается применение полипептида, связывающего трансферриновый рецептор, по данному изобретению, при изготовлении лекарственного средства для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, по данному изобретению, можно применять при лечении аутоиммунных или воспалительных заболеваний. Примеры таких заболеваний включают, но не ограничиваются ими, анкилозирующий спондилит, артрит, остеоартрит, ревматоидный артрит, псориатический артрит, астму, склеродермию, инсульт, атеросклероз, болезнь Крона, колит, язвенный колит, дерматит, дивертикулит, фиброз, идиопатический легочный фиброз, фибромиалгию, гепатит, синдром раздраженного кишечника (СРК), волчанку, системную красную волчанку (СКВ), нефрит, рассеянный склероз и язвенный колит. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается применение полипептида, связывающего трансферриновый рецептор, по данному изобретению, при изготовлении лекарственного средства для лечения аутоиммунных или воспалительных заболеваний.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, по данному изобретению, можно применять при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, сердечный приступ, нарушения сердечного ритма или аритмии, сердечная недостаточность, заболевание клапанов сердца, врожденный порок сердца, заболевание сердечной мышцы, кардиомиопатия, заболевание перикарда, заболевание аорты, синдром Марфана, заболевание сосудов и заболевание кровеносных сосудов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагается применение полипептида, связывающего трансферриновый рецептор, по данному изобретению, при изготовлении лекарственного средства для лечения сердечно-сосудистого заболевания.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ дополнительно включает введение субъекту одного или большего количества дополнительных терапевтических агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения для лечения заболевания головного мозга или центральной нервной системы указанный способ может включать введение субъекту

нейропротекторного агента, *например*, антихолинергического агента, допаминергического агента, глутаматергического агента, ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), каннабиноида, ингибитора каспазы, мелатонина, противовоспалительного агента, гормона (*например*, эстрогена или прогестерона) или витамина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ включает введение субъекту агента для применения при лечении когнитивного или поведенческого симптома неврологического нарушения (*например*, антидепрессанта, агониста допамина или антипсихотического агента).

трансферриновый Полипептид, связывающий рецептор, данному ПО изобретению, вводят субъекту в терапевтически эффективном количестве или дозе. Типовые дозы, которые могут применяться, включают диапазон суточной дозы от около 0.01 до около 500 мг/кг, или от около 0.1 до около 200 мг/кг, или от около 1 до около 100мг/кг, или от около 10 мг/кг до 50 мг/кг. Однако дозы могут варьироваться в зависимости от нескольких факторов, включая выбранный путь введения, состав композиции, реакцию пациента, тяжесть состояния, вес субъекта и мнение врача, назначающего препарат. Доза может быть увеличена или уменьшена с течением времени, если это необходимо для отдельного пациента. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения пациенту сначала вводят низкую дозу, которую затем увеличивают до эффективной дозы, приемлемой для указанного пациента. Определение эффективного количества находится в пределах компетенции специалистов в данной области техники.

В различных вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, ПО данному изобретению, вводят парентерально. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид вводят внутривенно. Внутривенное введение можно осуществлять посредством инфузии, например, в течение периода от около 10 до около 30 минут или в течение периода, составляющего по меньшей мере 1 час, 2 часа или 3 часа. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид вводят в качестве внутривенного болюса. Также можно применять комбинации инфузии и болюсного введения.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, вводят внутрибрюшинно, подкожно, внутрикожно или внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид вводят внутрикожно или внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид вводят интратекально, например, эпидурально или интрацеребровентрикулярно.

В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, можно вводить перорально, посредством легочного введения, интраназального введения, внутриглазного введения или местного введения. Легочное введение также может применяться, *например*, путем использования ингалятора или небулайзера и состава с аэрозольным агентом.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И НАБОРЫ

В другом аспекте предлагаются фармацевтические композиции и наборы, содержащие полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, согласно данному изобретению.

Фармацевтические композиции

Руководство по приготовлению составов для применения в данном изобретении можно найти во многих справочниках по фармацевтическому приготовлению и составлению, которые известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения фармацевтическая композиция содержит полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, как описано в данном документе, а также дополнительно содержит один или большее количество фармацевтически приемлемых носителей и/или вспомогательных веществ. Фармацевтически приемлемый носитель включает любые растворители, дисперсионные среды или покрытия, которые являются физиологически совместимыми и которые предпочтительно не препятствуют или иным образом не ингибируют активность активного агента. Различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества являются хорошо известными.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный носитель является пригодным для внутривенного, интратекального, интрацеребровентрикулярного, внутримышечного, перорального, внутрибрюшинного, трансдермального, местного или подкожного введения. Фармацевтически приемлемый носитель может содержать одно или большее количество физиологически приемлемых соединений, которые действуют, например, для стабилизации композиции или для увеличения или уменьшения абсорбции полипептида. Физиологически приемлемые соединения могут включать, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие агенты, низкомолекулярные белки, композиции, которые уменьшают клиренс или гидролиз активных агентов, или вспомогательные вещества или другие стабилизаторы и/или буферы. Другие фармацевтически приемлемые носители и их составы также являются доступными в данной области техники.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть изготовлены с помощью способов, известных специалистам в данной области техники, *например*, посредством процессов обычного смешивания, растворения, гранулирования, приготовления драже, эмульгирования, капсулирования, захватывания или лиофилизации. Следующие способы и вспомогательные вещества приведены исключительно в целях иллюстрации и никаким образом не являются ограничивающими.

Для перорального введения, полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, может быть составлен путем объединения его с фармацевтически приемлемыми носителями, которые хорошо известны в данной области техники. Такие носители позволяют составлять соединения в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, эмульсий, липофильных и гидрофильных суспензий, жидкостей, гелей, сиропов, пастообразных смесей, суспензий и тому подобного для перорального приема пациентом, подлежащим лечению. Фармацевтические препараты для перорального применения могут быть получены путем смешивания полипептидов с твердым вспомогательным веществом, необязательно, с измельчением полученной смеси и обработки смеси гранул после добавления пригодных добавок, при необходимости, для получения ядер таблеток или драже. Пригодные вспомогательные вещества включают, например, наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; препараты целлюлозы, такие например, кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, как, картофельный крахмал, желатин, трагакантовая камедь, метилцеллюлоза, натриевая гидроксипропилметилцеллюлоза, соль карбоксиметилцеллюлозы поливинилпирролидон. При необходимости могут быть добавлены дезинтегрирующие агенты, такие как сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

Как описано выше, полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, как описано в данном документе, можно составить для парентерального введения путем путем болюсной инъекции или непрерывной инфузии. Для инъекции, например, инъекции, указанные полипептиды могут быть составлены в препараты путем их растворения, суспендирования или эмульгирования в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие подобные масла, синтетические глицериды алифатической кислоты, сложные эфиры высших алифатических кислот пропиленгликоль; и, при необходимости, с обычными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические агенты, суспендирующие агенты, стабилизаторы и консерванты. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептиды могут быть составлены в водных растворах, предпочтительно в

физиологический солевой буфер. Составы для инъекций могут быть представлены в стандартной лекарственной форме, *например*, в ампулах или в контейнерах с множеством доз, с добавленным консервантом. Указанные композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных жидких носителях, и они могут содержать вспомогательные агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, готовят для доставки в составе с замедленным высвобождением, контролируемым высвобождением, пролонгированным высвобождением, высвобождением с регулированием по времени или с отсроченным высвобождением, например, в полупроницаемых матрицах твердых гидрофобных полимеров, содержащих активный агент. Разработаны различные типы материалов с замедленным высвобождением, которые хорошо известны специлистам в данной области Составы с пролонгированным высвобождением включают таблетки с техники. пленочным покрытием, системы из множества частиц или гранул, матричные технологии с использованием гидрофильных или липофильных материалов и таблетки на основе воска с порообразующими вспомагательными веществами. Системы доставки с замедленным высвобождением могут, в зависимости от их конструкции, высвобождать соединения в течение часов или дней, например, в течение 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24 часов или более. Обычно составы с замедленным высвобождением могут быть приготовлены с применением встречающихся в природе или синтетических полимеров, например, полимерных винилпирролидонов, таких как поливинилпирролидон; карбоксивинилгидрофильных полимеров; гидрофобных и/или гидрофильных гидроколлоидов, такие как метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза и гидроксипропилметилцеллюлоза; и карбоксиполиметилена.

Как правило, фармацевтическая композиция для применения при введении *in vivo* является стерильной. Стерилизация может быть выполнена в соответствии со способами, известными в данной области техники, *например*, путем термической стерилизации, стерилизации паром, стерильной фильтрации или облучения.

Дозы и необходимая концентрация лекарственного средства в фармацевтических композициях по данному изобретению могут варьироваться в зависимости от конкретного применения. Определение подходящей дозировки или пути введения хорошо известно специалисту в данной области техники. Подходящие дозы также описаны в разделе VII выше.

Наборы

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предлагаются наборы, содержащие полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные наборы предназначены для предотвращения или лечения неврологических нарушений, таких как заболевания головного мозга или центральной нервной системы (ЦНС).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный набор большее дополнительно содержит один или количестиво дополнительных терапевтических агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный набор содержит полипептид, связывающий трансферриновый рецептор, как описано в данном документе, и дополнительно содержит оодин или большее количестиво дополнительных терапевтических агентов для применения при лечении неврологического нарушения. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения набор дополнительно содержит инструктивные материалы, содержащие указания (то есть протоколы) для практического применения способов, описанных в данном документе (например, инструкции для применения набора для введения композиции через гематоэнцефалический барьер). Хотя инструктивные материалы обычно содержат письменные или печатные материалы, они не ограничиваются таковыми. Любой носитель, способный хранить такие инструкции и передавать их конечному пользователю, предусмотрен данным изобретением. Такие носители включают, но не ограничиваются ими, электронные носители (например, диски, кассеты, картриджи, чипы), оптические носители (например, CD-ROM) и т. п. Такие носители могут включать адреса интернет-сайтов, которые предоставляют такие инструктивные материалы.

ПРИМЕРЫ

Данное изобретение будет описано более подробно посредством конкретных Примеров. Следующие примеры приведены только в иллюстративных целях и никоим образом не предназначены для ограничения данного изобретения. Специалистам в данной области техники будут понятны различные некритичные параметры, которые могут быть изменены или модифицированы для получения по существу таких же результатов. Были предприняты усилия для того, чтобы обеспечить точность в отношении использованных чисел (например, количеств, температур и тому подобного), однако некоторые экспериментальные ошибки и отклонения могут присутствовать. Если не указано иное, при практической реализации данного изобретения применяются традиционные способы

химии белков, биохимии, технологии рекомбинантных ДНК и фармакологии, которые соответствуют данной области техники. Такие приемы подробно описаны в литературе. Кроме того, для специалиста в данной области техники должно быть очевидно, что способы конструирования, применяемые к определенным библиотекам, также могут применяться к другим библиотекам, описанным в данном документе.

Пример 1. Генерация мишени TfR

ДНК, кодирующую эктодомен (ECD) трансферринового рецептора (TfR) (остатки 121-760 TfR человека (SEQ ID NO: 235) или яванского макака (SEQ ID NO: 300), клонировали в экспрессионый вектор млекопитающего с С-концевыми расщепляемыми Ніз- и Аvі-метками. Плазмиду трансфицировали и экспрессировали в клетках НЕК293. Эктодомен очищали от собранного супернатанта с помощью Ni-NTA хроматографии с последующей эксклюзионной хроматографией по размеру для удаления любого агрегированного белка. Выход составил около 5 мг на литр культуры. Белок хранили в 10 мМ К₃PO₄ (pH 6,7), 100 мМ КСl, 100 мМ NaCl и 20% глицерина и замороживали при -20°C.

ДНК, кодирующую апикальный домен TfR с перестановками (SEQ ID NO: 301) (остатки 326-379 и 194-296 TfR человека или яванского макака), клонировали в вектор рЕТ28 с N-концевой His-меткой для очистки и с Avi- меткой для биотинилирования *in vivo*. Плазмиду совместно трансформировали экспрессирующим вектором BirA в клетки BL21 (DE3). Клетки выращивали в среде LB при 37 лет. °C до логарифмической фазы, а затем индуцировали 1 мМ изопропил-1-тио-β-D-галактопиранозидом (IPTG) с последующим культурированием в течение ночи при 18°C. Клетки лизировали и растворимую фракцию наносили на колонку Ni-NTA для аффинной очистки с последующей эксклюзионной хроматографией по размеру для удаления любого агрегированного белка. Выход составил около 10 мг на литр культуры. Белок хранили в 50 мМ HEPES (рН 7,5), 150 мМ NaCl и 1 мМ DTT и замороживали при -20°C.

Очищенные ECD TfR биотинилировали, применяя набор EZ-link sulfo-NHS-LC-Biotin (полученный от Thermo Scientific). Для реакции применяли пятикратный молярный избыток биотина. Избыток биотина удаляли путем экстенсивного диализа против PBS.

Avi-меченные ECD TfR и апикальные домены биотинилировали, применяя Bir A-500 (стандартный реакционный набор биотин-протеин-лигазы Bir A от Avidity, LLC). После реакции меченые белки дополнительно очищали с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру для удаления избытка фермента Bir A. Конечный материал хранили в 10 мМ K₃PO₄ (рH 6,7), 100 мМ KCl, 100 мМ NaCl и 20% глицерина и замороживали при -20°C.

Пример 2. Дизайн и характеристика сконструированных полипептидов, связывающих трансферриновый рецептор

Этот пример описывает дизайн, генерацию и характеристику полипептидов по данному изобретению. Для целей этого примера и сравнения аминокислот, которые являются одинаковыми в последовательностях клонов, "консервативной" мутацией считается мутация, которая произошла во всех идентифицированных клонах (не консервативная аминокислотная замена), тогда как "полу-консервативной" мутацией считается мутация, которая встречается y > 50% клонов.

Если не указано иное, положения аминокислотных остатков в этом разделе пронумерованы на основе SEQ ID NO: 1, Fc-области дикого типа IgG1 человека, имеющей три остатка от шарнира, PCP, на аминотерминальном конце.

Дизайн библиотек доменов Fc области полипептида

Для Fc-областей полипептида было разработано новое молекулярное распознавание путем выбора определенных гидрофильных участков поверхности для модификации, создания библиотек дисплея поверхности, в которых аминокислотный состав выбранного участка был изменен путем рандомизации, и затем скрининга вариантов последовательности, отображаемых на поверхности, для получения желаемой функциональности с применением стандартных методов дисплея экспрессии. В данном контексте термин "рандомизация" включает частичную рандомизацию, а также изменения последовательности с предварительно определенными соотношениями нуклеотидов или аминокислот. Типичные участки поверхности, выбранные для рандомизации, имели области от около 600 до 1500 Å², и содержали от около 7 до 15 аминокислот.

Регистры клонов

Следующие регистры были разработаны и сгенерированы в соответствии со способами, описанными в данном документе. В данном контексте термин "регистр" относится к серии экспонированных на поверхности аминокислотных остатков, которые образуют непрерывную поверхность, которая может быть изменена (например, путем введения мутаций в последовательности генов, кодирующих пептид, для получения аминокислотных замен, вставок и/или делеций в положениях, перечисленных в указанных регистрах).

а. СН2 регистр А2 - набор (ііі)

Регистр CH2A2 (Таблица 1) включает положения аминокислот 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63, пронумерованные со ссылкой на аминокислотную последовательность Fc области IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 1. Регистр CH2A2 был разработан для формирования поверхности вдоль бета-листа, примыкающего поворота и следующей

петли. Он хорошо удаляется как с сайтов связывания $Fc\gamma R$, так и с сайтов связывания FcRn.

а. СН2 регистр С - набор (iv)

Регистр СН2С (Таблица 2) включает положения аминокислот 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72, пронумерованные со ссылкой на аминокислотную последовательность Fc области IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 1. Регистр СН2С использует гидрофильные остатки вдоль ряда петель вблизи шарнира и очень близко к сайту связывания FcγR области CH2.

а. СН2 регистр D - набор (v)

Регистр СН2D (Таблица 3) включает положения аминокислот 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 66, 69 и 73, пронумерованные со ссылкой на аминокислотную последовательность Fc области IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 1. Регистр СН2D, подобно СН2C, использует гидрофильные остатки вдоль ряда петель в верхней части СН2 области, очень близко к сайту связывания FcγR. Регистры СН2С и СН2D в значительной степени совместно используют одну петлю и отличаются во второй петле, используемой для связывания.

а. СН2 регистр Е3 - набор (vi)

Регистр СН2Е3 (Таблица 4) включает положения аминокислот 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104, пронумерованные со ссылкой на аминокислотную последовательность Fc области IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 1. Положения регистра CH2E3 также близки к сайту связывания $Fc\gamma R$, но используют гидрофильные остатки на беталистах, которые примыкают к петлям возле сайта связывания $Fc\gamma R$, в дополнение к некоторым остаткам петли.

а. СН3 регистр В - набор (ii)

Регистр СНЗВ (Таблица 5) включает положения аминокислот 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213, пронумерованные со ссылкой на аминокислотную последовательность Fc области IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 1. Регистр СНЗВ в основном состоит из гидрофильных остатков, на двух параллельных бета-листах вместе с несколькими менее структурированными остатками вблизи С-конца СНЗ области. Он находится на расстоянии от сайтов связывания FcγR и FcRn.

а. СНЗ регистр С - набор (i)

Регистр СНЗС (Таблица 6) включает положения аминокислот 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194, пронумерованные со ссылкой на аминокислотную последовательность Fc области IgG1 человека, представленную в SEQ ID NO: 1. Положения регистра СНЗС образуют непрерывную поверхность путем включения

экспонированных на поверхности остатков из двух петель, при этом оба удалены от сайтов связывания $Fc\gamma R$ и FcRn.

Генерация библиотек фагового дисплея

ДНК-матрицу, кодирующую Fc-последовательность дикого типа человека (SEQ ID NO: 1), синтезировали и включали в фагмидный вектор. Указанный фагмидный вектор содержал лидерную последовательность отрА или pelB, Fc вставку, слитую с метками эпитопа c-Myc и 6хHis, и амбер стоп-кодон, за которым следовал М13 белок оболочки pIII.

Генерировали праймеры, содержащие трикодоны "NNK" в соответствующих положениях для рандомизации, где N представляет собой любое основание ДНК (то есть А, С, G или Т) и К представляет собой либо G, либо Т. В альтернативном варианте применяли праймеры для "мягкой" рандомизации, при этом смесь оснований, соответствующих 70% основания дикого типа и 10% каждого из трех других оснований, применяли для каждого рандомизационного положения. Библиотеки генерировали путем проведения ПЦР-амплификации фрагментов Fc области, соответствующих областям рандомизации, а затем собирали с применением конечных праймеров, содержащих сайты рестрикции SfiI, затем расщепляли с помощью SfiI и лигировали в фагмидные векторы. В альтернативном варианте указанные праймеры применяли для проведения мутагенеза по Кункелю. Способы выполнения мутагенеза по Кункелю будут известны специалисту в данной области техники. Лигированные продукты или продукты по Кункелю трансформировали в электрокомпетентные клетки E. coli штамма TG1 (полученные от Lucigen®). Указанные клетки *E. coli* инфицировали фагом-хелпером М13К07 после восстановления и выращивали в течение ночи, после чего фаг из библиотеки осаждали с помощью 5% PEG/NaCl, ресуспендировали в 15% глицерине в PBS и замораживали до применения. Типовые размеры библиотек варьировались от 10^9 до около 10^{11} трансформантов. Fc-димеры отображались на фаге посредством спаривания между pIIIслитым Fc и растворимым Fc, не связанным с рIII (последний генерируется из-за амбер стоп-кодона перед pIII).

Генерация библиотек дрожжевого дисплея

ДНК-матрицу, кодирующую Fc-последовательность дикого типа человека, синтезировали и включали в вектор дрожжевого дисплея. Для библиотек СН2 и СН3, Fc полипептиды отображались на белке клеточной стенки Aga2p. Оба вектора содержали препро-лидерные пептиды с последовательностью расщепления Kex2, и метку эпитопа с-Мус, слитую с концом Fc.

Библиотеки дрожжевого дисплея формировали с помощью способов,

аналогичных описанным для фаговых библиотек, за исключением того, что амплификацию фрагментов проводили с праймерами, содержащими гомологичные концы для вектора. Свежеприготовленные электрокомпетентные дрожжи (то есть штамм ЕВҮ100) подвергали электропорации с линеаризованным вектором и вставками сформированной библиотеки. Способы электропорации будут известны специалисту в данной области техники. После восстановления в селективной среде SD-CAA, дрожжи выращивали до слияния и дважды разделяли, затем индуцировали для экспрессии белка путем переноса в среду SG-CAA. Типовые размеры библиотек варьировались от 107 до около 109 трансформантов. Fc-димеры образовывали путем спаривания смежно отображаемых Fc мономеров.

Общие способы для отбора фагов

Способы для отбора фагов адаптировали из Phage Display: A Laboratory Manual (Barbas, 2001). Дополнительные подробности протокола можно получить из этой ссылки.

а. Способы сортировки планшетов

Мишень ТfR человека наносили на планшеты для микротитрования MaxiSorp® (обычно 200 мкл в концентрации 1-10 мкг/мл в PBS) в течение ночи при 4°C. Весь этап связывания осуществлялся при комнатной температуре, если не указано иное. Фаговые библиотеки добавляли в каждую лунку и инкубировали в течение ночи для связывания. Микротитровальные лунки тщательно промывали PBS, содержащим 0,05% Tween® 20 (PBST), и связанный фаг элюировали путем инкубации лунок с кислотой (обычно 50 мМ HCl с 500 мМ КСl или 100 мМ глицина, pH 2,7) в течение 30 минут. Элюированный фаг нейтрализовали с применением 1 М трис (pH 8) и амплифицировали, используя клетки TG1 и фаг-хелпер М13/КО7, и выращивали в течение ночи при 37°C в среде 2YT, содержащей 50 мкг/мл карбенациллина и 50 мкг/мл канамицина. Титры фагов, элюированных из лунки, содержащей мишень, сравнивали с титрами фагов, извлеченных из лунки, не содержащей мишень, для оценки обогащения. Жесткость отбора повышали путем последовательного уменьшения периода времени инкубации во время связывания и увеличения периода времени промывок и количества промывок.

а. Способы сортировки гранул

Мишень TfR человека биотинилировали через свободные амины с применением NHS-PEG4-биотина (полученного от Pierce[™]). Для реакций биотинилирования применяли 3-5-кратный молярный избыток биотинового реагента в PBS. Реакции гасили с применением Трис с последующим экстенсивным диализом в PBS. Биотинилированную мишень иммобилизовали на магнитных гранулах покрытых стрептавидином, (*то есть* М280-стрептавидиновые гранулы, полученные от Thermo Fisher). Библиотеки фагового

дисплея инкубировали с гранулами, покрытыми мишенями, при комнатной температуре в течение 1 часа. Несвязанный фаг затем удаляли, и гранулы промывали с помощью PBST. Связанный фаг элюировали путем инкубации с 50 мМ HCl, содержащей 500 мМ KCl (или 0,1 М глицин, pH 2,7), в течение 30 минут, а затем нейтрализовали и размножали, как описано выше для сортировки планшетов.

После трех-пяти циклов пэннинга отдельные клоны подвергали скринингу, экспрессируя Fc на фаге или растворяя в периплазме $E.\ coli$. Такие способы экспрессии будут известны специалисту в данной области техники. Отдельные супернатанты фагов или периплазматические экстракты подвергали воздействию на блокированных планшетах для ИФА, покрытых мишенью или отрицательным контролем, и затем детектировали с применением HRP-конъюгированного козьего анти-Fc (полученного от Jackson Immunoresearch) для периплазматических экстрактов или анти-M13 (GE Healthcare) для фага, после чего обрабатывали реагентом TMB (полученным от Thermo Fisher). Лунки с показателями OD450 , которые были выше более чем в 5 раз по сравнению с фоном, считали положительными клонами и сиквенировали, после чего некоторые клоны экспрессировали либо в виде растворимого Fc фрагмента, либо сливали с Fab фрагментами.

Общие способы для отбора дрожжей

а. Способы сортировки гранул (магнито-активированная клеточная сортировка (MACS))

Отборы MACS и FACS выполняли аналогично тому, как описано в Ackerman, et al. 2009 Biotechnol. Prog. 25(3), 774. Стрептавидиновые магнитные гранулы (например, M-280 стрептавидиновые магнитные гранулы от ThermoFisher) метили биотинилированной мишенью и инкубировали с дрожжами (обычно 5-10-кратное разнообразие библиотек). Несвязанные дрожжи удаляли, гранулы промывали, и связанные дрожжи выращивали в селективных средах и индуцировали для последующих циклов отбора.

а. Способы сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS)

Дрожжи метили анти-с-Мус-антителом для мониторинга экспрессии и биотинилированной мишенью (концентрация варьировалась в зависимости от цикла сортировки)В некоторых экспериментах мишень предварительно смешивали со стрептавидином-Alexa Fluor[®] 647 для того, чтобы повысить авидность взаимодействия. В других экспериментах биотинилированную мишень обнаруживали после связывания и промывания с применением стрептавидина-Alexa Fluor[®] 647. Синглетные дрожжи со связыванием сортировали с помощью сортировщика клеток FACS Aria III. Сортированные

дрожжи выращивали в селективных средах, затем индуцировали для последующих циклов отбора.

После получения обогащенной дрожжевой популяции дрожжи высевали на чашки с агаром SD-CAA, и отдельные колонии выращивали и индуцировали для экспрессии, затем помечали, как описано выше, для определения их склонности к связыванию с мишенью. Положительные одиночные клоны впоследствии сиквенировали для связывания с мишенью, после чего некоторые клоны экспрессировали либо в виде растворимого Fc фрагмента, либо в виде слитых с Fab фрагментами.

Общие способы для скрининга

а. Скрининг с помощью ИФА

Клоны отбирали по результатам пэннинга и выращивали в отдельных лунках 96-луночных планшетов с глубокими лунками. Клоны либо индуцировали для периплазматической экспрессии с применением автоиндукционной среды (полученной от EMD Millipore), либо инфицировали фагом-хелпером для фагового отображения отдельных Fc вариантов на фаге. Культуры выращивали в течение ночи и центрифугировали для получения осадка *E. coli*. Для фагового ИФА непосредственно применяли супернатант, содержащий фаг. Для периплазматической экспрессии осадок ресуспендировали в 20% сахарозе с последующим разбавлением водой 4:1 и встряхивали при 4°C в течение 1 часа. Планшеты центрифугировали для осаждения твердых частиц, и супернатант применяли в ИФА.

Планшеты для ИФА покрывали мишенью, обычно в концентрации 0,5 мг/мл в течение ночи, затем блокировали с применением 1% BSA перед добавлением фага или периплазматических экстрактов. После 1-часовой инкубации и вымывания несвязанного белка добавляли конъюгированное с HRP вторичное антитело (то есть анти-Fc или анти-М13для растворимого Fc или отображаемого на фаге Fc) и инкубировали в течение 30 минут. Планшеты снова промывали и затем обрабатывали реагентом TMB и гасили 2N серной кислотой. Поглощение при 450 нм определяли количественно с помощью планшет-ридера (BioTek®), и получали кривые связывания с помощью программного обеспечения Prism, где это было применимо. Сигнал поглощения для тестируемых клонов сравнивали с отрицательным контролем (фаг или параплазматический экстракт без Fc). В некоторых анализах растворимый голо-трансферрин добавляли в ходе этапа связывания, обычно при значительном молярном избытке (более чем в 10-кратном избытке).

а. Скрининг с помощью проточной цитометрии

Вариантные полипептиды Fc (экспрессируемые на фаге, в периплазматических экстрактах или растворимые в виде слияний с Fab фрагментами) добавляли к клеткам в

96-луночных V-образных планшетах (около 100000 клеток на лунку в PBS + 1% BSA (PBSA)), и инкубировали при 4 □С в течение 1 часа. Затем планшеты центрифугировали и среду удаляли, после чего клетки один раз промывали с применением PBSA. Клетки ресуспендировали в PBSA, содержащем вторичное антитело (козье антитело против IgG человека Alexa Fluor [®] 647 (полученное от Thermo Fisher))Через 30 минут планшеты центрифугировали и среду удаляли, клетки промывали 1-2 раза с применением PBSA, а затем планшеты считывали на проточном цитометре (*то есть* на проточном цитометре FACSCanto[™] II). Медианные значения флуоресценции рассчитывали для каждого условия с помощью программного обеспечения FlowJo, а кривые связывания наносили с помощью программного обеспечения Prism.

Генерация и характеристика клона СН2А2

а. Отборы с библиотекой CH2A2 против трансферринового рецептора (TfR)

Фаговые и дрожжевые библиотеки против CH2A2 подвергали пэннингу и сортировали в отношении TfR, как описано выше. Клоны, связывающие TfR человека и/или яванского макака (Cyno), идентифицировали в анализах ИФА, как описано в разделе "Скрининг с помощью ИФА" выше, после четырех циклов фагового пэннинга. Последовательности репрезентативных клонов делятся на две группы: группа 1, содержащая 15 уникальных последовательностей (то есть SEQ ID NO: 47-61) и группа 2, содержащая одну уникальную последовательность (то есть SEQ ID NO: 62). Последовательности группы 1 имели консервативный мотив Glu-Trp в положениях 60-61. В других положениях консенсус не проявлялся, хотя положение 58 использовало Arg, а положение 59 - Trp или Туг.

а. Характеристика клонов СН2А2

Отдельные варианты СН2А2 экспрессировали на поверхности фага и анализировали на связывание с TfR человека, TfR яванского макака или нерелевантным контролем с помощью ИФА. Экспрессию Fc подтверждали с помощью ИФА по отношению к антителу анти-Мус 9Е10, которое связывалось с С-концевой меткой с-Мус эпитопа. Данные для четырех репрезентативных клонов, прриведенные на Фиг. 1А-1D, продемонстрировали, что все клоны были хорошо экспрессированы и связаны с TfR человека, в то время как ни один из клонов не был связан с нерелевантным контролем. Три клона из группы 1 также связывались с TfR яванского макака, тогда как один клон из группы 2 (то есть клон 2А2. 16) был специфичным для TfR человека.

Во втором анализе концентрация фага была постоянной (*то есть* с аппроксимирующим значением EC_{50}), и добавляли изменяющуюся концентрацию растворимого конкурента, либо голо-трансферрина, либо TfR человека. На Фиг. 2A и 2B

продемонстрировано, что добавление голо-трансферрина в концентрациях до 5 мкМ не оказывало заметного влияния на связывание. И наоборот, растворимый TfR человека может конкурировать за связывание с поверхностно-адсорбированным TfR человека, что указывает на специфическое взаимодействие.

Варианты СН2А2 экспрессировались в виде Fc слияний с Fab-фрагментами анти-ВАСЕ1 путем клонирования в экспрессионный вектор, содержащий последовательность вариабельной области анти-ВАСЕ1. После экспрессии в клетках 293 или СНО, полученные слияния СН2А2-Fab очищали с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем анализировали на связывание с помощью ИФА, поверхностного плазмонного резонанса (SPR; *то есть* с помощью прибора Віасоге™), биослойной интерферометрии (*то есть* с помощью системы Octet® RED), связывания клеток (*например*, проточной цитометрии) и других способов, описанных в данном документе. Кроме того, полученные слияния "полипептид-Fab" характеризуются стабильностью при термическом плавлении, замораживании-оттаивании и денатурации, ускоренной под воздействием нагрева.

а. Дополнительное конструирование клонов СН2А2

Для усиления аффинности связывания начальных попаданий по отношению к TfR человека и яванского макака сконструировали две вторичные библиотеки. Первую библиотеку генерировали на основе клонов группы 1. Консервативный мотив EW в положениях 60 и 61 оставался инвариантным, а полуконсервативный R в положении 58 был мутирован с помощью мягкой рандомизации. Другие положения библиотеки (то есть положения 47, 49, 56, 59, 62 и 63) мутировали путем насыщающего мутагенеза. Вторую библиотеку конструировали на основе клона группы 2. Эту библиотеку генерировали путем мягкой рандомизации положений исходной библиотеки CH2A2, но в качестве матрицы применяли клон 2A2. 16 (SEQ ID NO: 62) (а не Fc дикого типа (SEQ ID NO: 1)). Обе библиотеки конструировали для фагового и дрожжевого дисплея с помощью способов, описанных выше.

Библиотеки подвергали скринингу с помощью способов, описанных выше, и идентифицировали несколько клонов, которые связывали TfR человека, с помощью $U\Phi A$ (Таблица 1).

Генерация и характеристика клона СН2С

а. Отборы с библиотекой CH2C против трансферринового рецептора (TfR)

Фаговые и дрожжевые библиотеки против CH2C подвергали пэннингу и сортировали в отношении TfR, как описано выше. Клоны, связывающие TfR человека и/или яванского макака (Cyno), идентифицировали в анализах ИФА, как описано в разделе

"Скрининг с помощью ИФА" выше, после четырех циклов фагового пэннинга (то есть клоны группы 1 и 4), и дополнительные клоны идентифицировали после четырех или пяти циклов сортировки дрожжей (то естьклоны группы 2 и 3) с помощью анализов на связывание дрожжей, как описано в разделе "Общие способы для отбора дрожжей" выше. Последовательности репрезентативных клонов делятся на четыре группы: группа 1, содержащая 16 уникальных последовательностей (то есть SEQ ID NO: 63-78), группа 2, содержащая 4 уникальные последовательности (то есть SEQ ID NO: 79-82), группа 3, содержащая 2 уникальные последовательности (то есть SEQ ID NO: 83-84), и группа 4, содержащая одну последовательность (то есть SEQ ID NO: 85). Последовательности группы 1 имели полуконсервативный Рго в положении 39, полуконсервативный Рго в положении 42, консервативный Рго в положении 43, полуконсервативный Тгр в положении 44, полуконсервативный Glu в положении 68, консервативный Туг в положении 70, и мало специфических предпочтений в других в положениях библиотеки. Последовательности группы 2 имели консервативный Met в положении полуконсервативный L в положении 40, консервативный Pro в положении 42, консервативный Val в положении 43, полуконсервативный Pro в положении 44, полуконсервативный Thr в положении 68, консервативный His в положении 70 и консервативный Рго в положении 72. Две последовательности группы 3 отличались только в положении 68, в котором присутствовал либо Val, либо Leu. Группа 4 состояла из одного клона (то есть CH2C.23) с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 85.

а. Характеристика клонов СН2С

Варианты СН2С экспрессировались в виде Fc слияний с Fab-фрагментами путем клонирования в экспрессионный вектор, содержащий эталонную последовательность вариабельной области анти-ВАСЕ1. После экспрессии в клетках 293 или СНО, полученные слияния полипептид-Fab очищали с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем анализировали на связывание с TfR человека или яванского макака. Как продемонстрировано на Фиг. 3А, клон СН2С.23 группы 4 голо-трансферрином. конкурировал Клоны, принадлежащие последовательностей 1, продемонстрированы в титрах связывания против TfR человека и Φ иг. 3В. Репрезентативные клоны из яванского макака на последовательностей тестировали на фаге на предмет связывания в присутствии или в отсутствие holo-Tf (см. Фиг. 3C), а клон CH2C.7 тестировали на связывание с TfR человека в присутствии голо-трансферрина с помощью биослойной интерферометрии (то есть с помощью системы Octet® RED; см. Фиг. 3D). Большинство клонов продемонстрировали некоторую перекрестную реактивность к TfR яванского макака, и, за исключением клона CH2C.23, тестируемые клоны не конкурировали с holo-Tf.

Генерация и характеристика клона СНЗВ

а. Отборы с библиотекой СН3В против трансферринового рецептора (TfR)

Фаговые и дрожжевые библиотеки против СНЗВ подвергали пэннингу и сортировали в отношении TfR, как описано выше. Клоны, связывающие TfR человека и/или яванского макака, идентифицировали в анализах ИФА, как описано в разделе "Скрининг с помощью ИФА" выше, после четырех циклов фагового пэннинга, и дополнительные клоны идентифицировали после четырех или пяти циклов сортировки дрожжей с помощью анализов на связывание дрожжей, как описано в разделе "Общие способы для отбора дрожжей" выше. Все 17 клонов (то есть SEQ ID NO :30-46) идентифицированных как из фага, так и из дрожжей, имели родственные последовательности; указанные последовательности имели полуконсервативный Рhe в положении 118, полуконсервативный отрицательно заряженный Asp или Glu в положении 119, полуконсервативный Thr в положении 122, консервативный G в положении 210, консервативный Phe в положении 211, полуконсервативный His в положении 212, и консервативный Аsp в положении 213. Несколько клонов имели мутацию Т123I, которая была положением, намеренно мутированным в дизайне библиотеки, предположительно была введена путем рекомбинации или ошибки ПЦР.

а. Характеристика клонов СН3В

Два репрезентативных клона, CH3B.11 (SEQ ID NO: 40) и CH3B.12 (SEQ ID NO: 41), были экспрессированы на поверхности фага и протестированы на связывание с TfR человека и яванского макака в присутствии или отсутствии holo-Tf. Добавление holo-Tf не влияло ни на один клон (Фиг. 4A). Дополнительно, варианты CH3B экспрессировались в виде слияний с Fab-фрагментами путем клонирования в экспрессионный вектор, содержащий последовательность вариабельной области анти-BACE1. После экспрессии в клетках 293 или CHO, полученные слияния полипептид-Fab очищали с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем анализировали на связывание с TfR человека или яванского макака (Фиг. 4B). Все продемонстрировлаи специфическое связывание с обоими ортологами.

а. Дополнительное конструирование клонов СНЗВ

Дополнительные способы конструирования, аналогичные описанным выше для СН2А2 для разработки и скрининга дополнительных библиотек, применяли для улучшения аффинности клонов СН3В. В частности, для дополнительной диверсификации были отобраны несколько серий из четырех-семи остаточных участков вблизи паратопа, как продемонстрировано на Фиг. 5 (темная поверхность представляет исходный регистр

библиотека; светлый участок представляет новые мутагенизированные положения). Клон CH3B.12 (SEQ ID NO: 41) применяли в качестве отправной точки; остатки, выбранные для насыщающего мутагенеза (то есть NNK), были следующими:

CH3B-участок 1 (SEQ ID NO: 101): аминокислотные положения 127, 128, 129, 131, 132, 133 и 134;

CH3B-участок 2 (SEQ ID NO: 102): аминокислотные положения 121, 206, 207 и 209;

CH3B-участок 3 (SEQ ID NO: 103): аминокислотные положения 125, 214, 217, 218, 219 и 220;

CH3B-участок 4 (SEQ ID NO: 104): аминокислотные положения 115, 117, 143, 174 и 176; а также

CH3B-участок 5 (SEQ ID NO: 105): аминокислотные положения 155, 157, 158, 193, 194 и 195.

Библиотеки генерировали с помощью ПЦР-мутагенеза и помещали в дрожжи и фаги, как описано в разделах "Генерация библиотек фагового дисплея" и "Генерация библиотек дрожжевого дисплея" выше. Библиотеки подвергали скринингу с помощью способов, описанных выше, и идентифицировали несколько клонов, которые связывали TfR человека, с помощью ИФА (Таблица 5).

<u>Генерация и характеристика клона СН2D</u>

а. Отборы с библиотекой CH2D против трансферринового рецептора (TfR)

Фаговые библиотеки против CH2D подвергали пэннингу в отношении TfR, как связывающие TfR человека и/или яванского макака. описано выше. Клоны, идентифицировали в анализах ИФА, как описано в разделе "Скрининг с помощью ИФА" выше. Идентифицировали пять уникальных клонов, которые были сгруппированы в два семейства последовательностей из 2 и 3 последовательностей, соответственно (Таблица 3). Группа последовательностей 1 (то есть клоны CH2D.1 (SEQ ID NO: 86) и CH2D.2 (SEQ ID NO: 87)) имела консервативный мотив VPPXM (SEQ ID NO: 111) в положениях 40-45, мотив SLTS (SEQ ID NO: 112) в положениях 64-67 и V в положении 73. Мутации в положении 40 не были включены в дизайн и, вероятно, были вызваны ошибкой ПЦР или рекомбинацией. Группа последовательностей 2 (то есть клоны CH2D.3 (SEQ ID NO: 88), CH2D.4 (SEQ ID NO: 89) и CH2D.5 (SEQ ID NO: 90)) имела консервативный D в положении 41, полуконсервативный D в положении 42, консервативный W в положении 43, полуконсервативный E в положении 44, консервативный ароматический (W или Y) в положении 45, консервативный мотив PW в положениях 64-65 и консервативный W в положении 73.

а. Характеристика и дополнительное конструирование клонов СН2D

Варианты CH2D экспрессировались в виде слияний с Fab-фрагментами путем клонирования в экспрессионный вектор, содержащий последовательность вариабельной области анти-BACE1. После экспрессии в клетках 293 или CHO, полученные слияния полипептид-Fab очищали с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем анализировали на связывание с TfR человека или яванского макака в присутствии или отсутствии holo-Tf с помощью способов, ранее описанных в данном документе.

Генерация и характеристика клона СН2Е3

а. Отборы с библиотекой CH2E3 против трансферринового рецептора (TfR)

Фаговые библиотеки против CH2E3 подвергали пэннингу в отношении TfR, как Клоны, связывающие TfR человека и/или яванского описано идентифицировали в анализах ИФА, как описано в разделе "Скрининг с помощью ИФА" выше. Три группы последовательностей были идентифицированы последовательностей, хотя две из групп состояли только из одной уникальной последовательности каждая (Таблица 4). Группа последовательностей 2, которая имела 3 уникальные последовательности (то есть клоны CH2E3.2 (SEQ ID NO: 92), CH2E3.3 (SEQ ID NO: 93) и CH2E3.4 (SEQ ID NO: 94)), имела полуконсервативный Val в положении 45, консервативный Gly в положении 47, консервативный Arg в положении 49, консервативный Arg в положении 95, консервативный Ser в положениях 97 и 99, консервативный Trp в положении 103 и Arg или Lys в положении 104.

а. Характеристика и дополнительное конструирование клонов СН2Е3

Варианты СН2Е3 экспрессировались в виде слияний с Fab-фрагментами путем клонирования в экспрессионный вектор, содержащий эталонную последовательность вариабельной области анти-ВАСЕ1. После экспрессии в клетках 293 или СНО, полученные слияния полипептид-Fab очищали с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем анализировали на связывание с TfR человека или яванского макака в присутствии или отсутствии holo-Tf с помощью способов анализов связывания, ранее описанных в данном документе.

Генерация и характеристика клона СН3С

а. Отборы с библиотекой СН3С против трансферринового рецептора (TfR)

Дрожжевые библиотеки против CH3C подвергали пэннингу и сортировали в отношении TfR, как описано выше. Графики FACS, демонстрирующие обогащение популяции для первых трех циклов сортировки, приведены на Фиг. 6. После дополнительных двух циклов сортировки, сиквенировали отдельные клоны и

идентифицировали четыре уникальные последовательности (*то есть* клоны CH3C.1 (SEQ ID NO: 4), CH3C.2 (SEQ ID NO) 5), CH3C.3 (SEQ ID NO: 6) и CH3C.4 (SEQ ID NO: 7)). Эти последовательности имели консервативный Trp в положении 161, и все имели ароматический остаток (*то есть* Trp, Tyr или His) в положении 194. В других положениях отмечалось много разнообразия.

а. Характеристика клонов СН3С первого поколения

Четыре клона, отобранные из библиотеки СНЗС, экспрессировали в виде Fc слияний с Fab фрагментами в клетках СНО или 293, очищали с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем подвергали скринингу на предмет связывания с TfR яванского макака и человека в присутствии или в отсутствие holo-Tf с помощью ИФА. Как продемонстрировано на Фиг. 7, все клоны связывались с TfR человека, а добавление избытка (5 мкМ) holo-Tf не влияло на связывание. Однако существенного связывания клонов с TfR яванского макака не отмечалось. Клоны также тестировали на связывание с клетками 293F, которые эндогенно экспрессируют TfR человека. На Фиг. 8 продемонстрировано, что хотя клоны и связывались с клетками 293F, общее связывание было значительно слабее, чем у положительного контроля, имеющего высокую аффинность.

Затем было протестировано, может ли клон CH3C.3 интернализироваться в TfRэкспрессирующих клетках. Прикрепленные клетки НЕК293 выращивали в 96-луночных планшетах до примерно 80% слияния, среды удаляли, и образцы добавляли в концентрациях 1 мкМ:СН3С.3 анти-TfR эталонное антитело положительного контроля (Ab204), анти-BACE1 эталонное антитело отрицательного контроля (Ab107) и изотипический контроль IgG человека (полученный от Jackson Immunoresearch). Клетки инкубировали при 37°C и 8% концентрации CO₂ в течение 30 минут, затем промывали, пермиабилизировали с помощью 0,1% Triton[™] X-100, и окрашивали вторичным антителом против IgG человека Alexa Fluor® 488. После дополнительной промывки клетки визуализировали под флуоресцентным микроскопом с высокой емкостью (то есть система Opera Phenix[™]), и количественно определяли количество точек на клетку, как продемонстрировано на Фиг. 9. При концентрации 1 мкМ клон СН3С.3 продемонстрировал сходную склонность к интернализации с положительным анти-TfR контролем, в то время как отрицательные контроли не продемонстрировали интернализации.

а. Вторичное конструирование клонов СН3С

Для усиления аффинности начальных попаданий CH3C против TfR человека и для попытки связывания с TfR яванского макака создали дополнительные библиотеки.

Применяли метод мягкой рандомизации, при этом генерировали олиго ДНК для введения мягкого мутагенеза на основе каждого из четырех исходных попаданий. Первая часть регистра (WESXGXXXXXYK; SEQ ID NO: 113) и вторая часть регистра (TVXKSXWQQGXV; SEQ ID NO: 114) были построены из отдельных фрагментов, поэтому мягко рандомизированные регистры были перемешаны во время амплификации ПЦР (например, первую часть регистра из клона CH3C.1 смешивали со второй частью регистра из клонов CH3C.1, CH3C.2, CH3C.3 и CH3C.4 и так далее). Все фрагменты смешивали и затем вводили в дрожжи для поверхностной экспрессии и отбора.

Схема отбора продемонстрирована на Фиг. 10. После одного цикла MACS и трех циклов FACS сиквенировали отдельные клоны (клоны CH3C.17 (SEQ ID NO: 8), CH3C.18 (SEQ ID NO: 9), CH3C.21 (SEQ ID NO: 10), CH3C.25 (SEQ ID NO: 11), CH3C.34 (SEQ ID NO: 12), CH3C.35 (SEQ ID NO: 13), CH3C.44 (SEQ ID NO: 14) и CH3C.51 (SEQ ID NO: 15)). Отобранные клоны делятся на две основные группы последовательностей. Клоны группы 1 (*то есть* клоны CH3C.18, CH3C.21, CH3C.25 и CH3C.34) имели полуконсервативный Leu в положении 157, Leu или His в положении 159, консервативный и полуконсервативный Val в положениях 160 и 162, соответственно, и полуконсервативный мотив PTW в положениях 186, 189 и 194 соответственно. Клоны группы 2 имели консервативный Туг в положении 157, мотив TXWSX (SEQ ID NO: 602) в положениях 159-163 и консервативный мотив S / T-E-F в положениях 186, 189 и 194 соответственно. Клоны СН3С.18 и СН3.35 применяли в дополнительных исследованиях в качестве репрезентативных представителей каждой группы последовательностей. Было отмечено, что клон СН3С.51 имеет первую часть своего регистра из группы 1 и вторую часть своего регистра из группы 2.

а. Характеристика связывания клонов СН3С из библиотеки мягкого мутагенеза

Клоны из библиотеки мягкого мутагенеза переформатировали в слитые полипептиды Fc-Fab и экспрессировали и очищали, как описано выше. Как продемонстрировано на Φ иг. 12, эти варианты характеризовались улучшенным связыванием в И Φ A с TfR человека по сравнению с верхним клоном из отборов исходных библиотек (CH3C.3), а также не конкурировали с holo-Tf. Наличие или отсутствие holo-Tf не оказывало заметного влияния на значения EC50 за пределами погрешности эксперимента, как показано ниже в Таблице 7.

Таблица 7. Значения EC₅₀ (нМ) для связывания в ИФА вариантов CH3C с TfR в присутствии или в отсутствие holo-Tf

Клон	-Tf	+Tf
CH3C.3	8,1	6,3

Клон	-Tf	+Tf
CH3C.17	5,3	17
CH3C.18	6,9	3,5
CH3C.25	51	48
CH3C.35	0,49	0,61
CH3C.51	160	36
Ab204	1,6	0,24

Примечательно, что клон CH3C.35 связан с TfR человека примерно так же, как и высокоаффинное контрольное антитело Ab204 анти-Tfr. Клоны, выбранные из библиотеки мягкой рандомизации, также характеризовались улучшенным клеточным связыванием с клетками 293F, как продемонстрировано на Фиг. 13. В аналогичном анализе клеточного связывания эти клоны тестировали на связывание с клетками CHO-K1, которые стабильно экспрессируют высокие уровни TfR человека или яванского макака на своей поверхности. Клоны, выбранные из библиотеки мягкой рандомизации, связывались с клетками, экспрессирующими TfR человека (Фиг. 14A), а также с TfR яванского макака (Фиг. 14B), и не связывались с родительскими клетками CHO-K1 (Фиг. 14C). Величина и значения связывания EC50 были существенно ниже для TfR яванского макака по сравнению с TfR человека. Данные приведены в таблице 8 ниже.

Таблица 8. Значения EC₅₀и макс. MFI (средняя интенсивность флуоресценции) для клонов CH3C, связывающихся с клетками

Клон	293F EC50 (HM)	293F MFI при 200 нМ	CHO- huTfR EC ₅₀ (HM)	CHO-huTf MFI при 200 нМ	CHO- cyTfR EC ₅₀ (HM)	CHO-cyTfR MFI при 200 нМ
СН3С.3	н. д.	1385	6,5	10296	н. д.	941
CH3C.17	н. д.	1556	4,2	13933	> 50	8205
CH3C.18	22	2100	2,3	22997	6,6	9614
CH3C.25	н. д.	314	17	11434	> 50	12515
CH3C.35	0,67	1481	2,6	22059	11	8292
CH3C.51	н. д.	784	27	11892	> 50	14455
Ab204	0,25	3404	1,8	35744	2,4	41041

а. Картирование эпитопов

Чтобы определить, связывались ли сконструированные Fc области CH3C с апикальным доменом TfR, апикальный домен TfR (SEQ ID NO: 107 и 108 для человека и яванского макака, соответственно) был экспрессирован на поверхности фага. Чтобы правильно сложить и отобразить апикальный домен, одну из петель необходимо было урезать, а указанную последовательность необходимо было кругообразно переставить;

последовательности, экспрессируемые на фаге, были идентифицированы как SEQ ID NO: 109 и 110 для человека и яванского макака, соответственно. Клоны CH3C.18 и CH3C.35 наносили на планшеты для ИФА и следовали ранее описанному протоколу фагового ИФА. Вкратце, после промывки и блокирования с помощью 1% PBSA, добавляли разведения фагового дисплея и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем планшеты промывали и добавляли анти-M13-HRP, и после дополнительной промывки на планшеты наносили субстрат TMB и гасили с применением 2N H₂SO₄. В этом анализе как CH3C.18, так и CH3C.35 связывались с апикальным доменом.

Поскольку было известно, что связывание с TfR яванского макака является намного слабее, чем связывание с TfR человека, было высказано предположение, что одно или большее количество аминокислотных различий между апикальными доменами яванского макака и человека, вероятно, являются ответственными за отличия в связывании. Таким образом, провели серию из шести точечных мутаций в апикальном домене TfR человека, при этом остаток человека заменяли соответствующим остатком яванского макака. Эти мутанты отображались на фаге, и концентрации фагов нормализовали с помощью OD₂₆₈, при этом связывание с CH3C.18 и CH3C.35 тестировали с помощью фагового титрования в ИФА (Фиг. 16В и 16С). Захват на антителе анти-Мус 9Е10 продемонстрировал, что уровни отображения для всех мутантов были одинаковыми (Фиг. 16A). Связывание с мутациями TfR человека четко продемонстрировало сильный эффект мутации R208G, что позволило предположить, что этот остаток является ключевой частью эпитопа и подвергается отрицательному воздействию остатка яванского макака в этом положении. Мутацию G208R выполняли на апикальном домене яванского макака в системе фагового дисплея, и при этом было продемонстрировано, что эта мутация значительно улучшает связывание с апикальным доменом яванского макака (Фиг. 16D и 16Е). Эти результаты демонстрируют, что клоны СН3С, связанные с апикальным доменом TfR, и это положение 208 было важным для связывания, в то время как положения 247, 292, 364, 370 и 372 были значительно менее важными.

а. Картирование паратопов

Чтобы понять, какие остатки в Fc домене были наиболее важными для связывания TfR, создали серию мутантных клонов CH3C.18 и CH3C.35, в которых каждый мутант имел одно положение в TfR-связывающем регистре, мутированное обратно в дикий тип. Полученные варианты экспрессировали рекомбинантно в виде слияний CH3C Fc-Fab и тестировали на предмет связывания с TfR человека или яванского макака (Фиг. 17). Для CH3C.35, положения 161 и 194 являлись абсолютно необходимыми для связывания; реверсия любого из них в дикий тип полностью устраняла связывание с

ТfR Представляется удивительным то, что реверсия положения 163 в дикий тип обеспечивала существенное повышение связывания с TfR яванского макака, при этом оказывая незначительное влияние на связывание с TfR человека. И наоборот, реверсия остатка 163 в дикий тип имела небольшой эффект в CH3C.18, но в этом варианте реверсия положений 189 и 194 полностью устраняла связывание с TfR человека. В обоих вариантах другие единичные реверсии оказывали умеренное (пагубное) влияние на связывание TfR человека, в то время как во многих случаях связывание с TfR яванского макака устранялось.

а. Дополнительное конструирование для улучшения связывания с TfR яванского макака

Для дополнительного повышения аффинности связывания вариантов CH3C с TfR яванского макака создавали дополнительные библиотеки. Эти библиотеки были разработаны, чтобы иметь менее чем около 10^7 клонов с точки зрения теоретического разнообразия, в результате чего пространство полного разнообразия может быть исследовано с помощью системы поверхностого дрожжевого дисплея. Дизайн этих библиотек продемонстрирован на Фиг. 18.Применяли четыре дизайна библиотеки; все библиотеки генерировали с применением вырожденных олиго с NNK или других положений вырожденного кодона и амплифицировали с помощью ПЦР с перекрытием, как описано выше.

Первая библиотека была основана на консенсусе СН3С.35-подобных последовательностей (Фиг. 18А). В этой библиотеке положения 157-161 поддерживали константными как YGTEW (SEQ ID NO: 115), тогда как положения 162, 163, 186, 189 и 194 мутировали с помощью насыщающего мутагенеза.

Вторая библиотека была основана на консенсусе СН3С.18-подобных последовательностей (Фиг. 18В). В этой библиотеке положение 157 было ограничено Leu и Met, положение 159 было ограничено Leu и His, положение 160 поддерживалось как Val, положение 161 было ограничено Trp и Gly, положение 162 было ограничено Val и Ala, положение 163 было полностью рандомизировано, положение 164 было добавлено в регистр и полностью рандомизировано, положение 186 было мягко рандомизировано, положение 189 было полностью рандомизировано, а положение 194 было ограничено ароматическими аминокислотами и Leu.

Третья библиотека добавила новые рандомизированные положения в библиотеку (Фиг. 18С). Генерировали две версии, каждая с CH3C.18 и CH3C.35 в качестве начального регистра, а затем дополнительные положения рандомизировали с помощью насыщающего мутагенеза :E153, E155, Y164, S188 и Q192.

Четвертая библиотека содержала определенные положения константными для СН3С.18, но допускала вариации в других положениях с меньшим смещением, чем консенсусная библиотека (Фиг. 18D). Положения 160, 161 и 186 были зафиксированы, а положения 157, 159, 162, 163 и 189 были рандомизированы путем насыщающего мутагенеза; положение 194 было мутировано, но ограничено ароматическими остатками и Leu.

Библиотеки отбирали в дрожжах в течение четырех-пяти циклов в отношении TfR яванского макака, и отдельные клоны сиквенировали и превращали в слияния полипептид-Fab, как описано выше. Наибольшее обогащение связывания супоTfR наблюдалось во второй библиотеке (то есть производные от родительского CH3.18), хотя была также некоторая потеря в связывании huTfR.

а. Характеристика связывания клонов созревания СНЗС

ИФА-связывание проводили с очищенными вариантами слияний CH3C Fc-Fab с TfR человека или яванского макака, нанесенными на планшет, как описано выше. Варианты из библиотеки созревания CH3C.18, CH3C3.2-1, CH3C.3.2-5 и CH3C.3.2-19, связывают TfR человека и яванского макака с приблизительно эквивалентными значениями EC_{50} , тогда как родительский клон CH3C.18 и CH3C.35 характеризовались более чем в 10 раз лучшим связыванием с TfR человека по сравнению с TFR яванского макака (Фиг. 19).

Затем протестировали, интернализуются ли новые полипептиды в клетках человека и обезьяны. Применяя протокол, описанный выше в разделе "Характеристика клонов СНЗС первого поколения", протестировали интернализацию в клетках НЕК293 человека и в клетках LLC-MK2 макака-резуса. Как продемонстрировано на Фиг. 20, варианты, которые сходным образом связывали TfR человека и яванского макака, СН3С.3.2-5 и СН3С.3.2-19, характеризовались значительно улучшенной интернализациией в клетках LLC-MK2 по сравнению с СН3С.35.

а. Дополнительное конструирование клонов СНЗС

Дополнительное конструирование для получения дополнительной аффинности зрелых клонов СНЗС.18 и СНЗС.35 включало в себя добавление дополнительных мутаций в положения каркаса (то есть вне регистра), которые усиливали связывание посредством прямых взаимодействий, взаимодействий вторичных оболочок или стабилизации структуры. Этого достигали с помощью генерации и отбора из библиотеки "NNK дорожка" или "NNK участок". Библиотека "NNK дорожка" включала создание поочередных NNK мутаций остатков, которые находятся близко к паратопу. При анализе структуры Fc, связанного с FcgRI (PDB ID:4W4O), определено, что 44 остатка около

регистра исходной библиотеки, как продемонстрировано на Фиг. 21, были определены в качестве кандидатов на запрос. В частности, следующие остатки были нацелены на мутагенез NNK: K21, R28, Q115, R117, E118, Q120, T132, K133, N134, Q135, S137, K143, E153, E155, S156, G158, Y164, K165, T166, D172, S173, D174, S176, K182, L183, T184, V185, K187, S188, Q191, Q192, G193, V195, F196, S197, S199, Q211, S213, S215, L216, S217, P218, G219 и K220. Библиотеки 44 отдельных точечных NNK генерировали с помощью мутагенеза по Кункелю, и продукты объединяли и вводили в дрожжи посредством электропорации, как описано выше для других библиотек дрожжей.

Комбинация этих мини-библиотек (каждая из которых имела одно мутированное положение, что привело к появлению 20 вариантам) генерировала небольшую библиотеку, которая была отобрана с помощью системы поверхностного дрожжевого дисплея для любых положений, что приводит к более высокой аффинности связывания. Отборы выполняли, как описано выше, с применением белков апикального домена TfR (Фиг. 22). После трех циклов сортировки, клоны из обогащенной библиотеки дрожжей сиквенировали, и идентифицировали несколько положений "горячих точек", в которых определенные точечные мутации значительно улучшали связывание с белками апикального домена. Для CH3C.35, эти мутации включали E153 (мутированный в Tгр, Туг, Leu или Gln) и S188 (мутированный в Glu). Последовательности одиночных и комбинированных мутантов CH3C.35 представлены в SEQ ID NO: 21-23, 236-241 и 297-299. Для CH3C.18, эти мутации включали E153 (мутированный в Tгр, Туг или Leu) и K165 (мутированный в Gln, Phe или His). Последовательности одиночных мутантов CH3C.18 представлены в SEQ ID NO: 242-247.

Подход "NNK участок" был аналогичен описанному выше для библиотеки CH3B, но с участками, непосредственно примыкающими к регистру CH3C.Клон CH3C.35 применяли в качестве отправной точки, и генерировали следующие библиотеки:

CH3C-участок 1:аминокислотные положения: K21, R28, Y164, K165 и T166;

CH3C-участок 2: аминокислотные положения:Q115, R117, E118, Q120 и K143;

СН3С-участок 3:аминокислотные положения:Т132, K133, N134, Q135 и S137;

CH3C-участок 4: аминокислотные положения:E153, E155, S156 и G158;

CH3C-участок 5: аминокислотные положения:D172, S173, D174, S176 и K182;

CH3C-участок 6: аминокислотные положения:L183, T184, V185, K187 и S188;

СН3С-участок 7: аминокислотные положения:Q191, Q192, G193, V195 и F196;

CH3C-участок 8: аминокислотные положения:S197, S199, Q211, S213 и S215; а также

СН3С-участок 9: аминокислотные положения:L216, S217, P218, G219 и K220.

Отборы выполняли, как описано выше, с применением белков апикального домена TfR. Однако никаких клонов с усиленным связыванием идентифицировано не было.

В другом аспекте данного изобретения предлагается способ усиления связывания модифицированного полипептида Fc, который содержит ненативный сайт связывания с мишенью (например, трансферриновым рецептором), при этом указанный способ включает:(а) введение одной или большего количества замен в одном или большем количестве положений в пределах 10 Å (например, в пределах 9 Å, 8 Å, 7 Å, 6 Å, 5 Å, 4 Å, 3 Å, 2 Å или 1 Å) ненативного сайта связывания; и (b) анализ модифицированного Fc С полипептида на предмет связывания мишенью. Свойства связывания модифицированного Fc полипептида с мишенью (например, с трансферриновым рецептором) можно определить с помощью доступных способов в данной области техники, например, способов отбора фагов и дрожжей, ИФА, поверхностного плазмонного резонанса (SPR; *то есть* применяя прибор Biacore $^{\text{тм}}$) и FACS.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения ненативный сайт связывания содержит замены в одном или большем количестве из следующих положений:157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения одну или большее количество замен в одном или большем количестве положений в пределах 10 Å от ненативного сайта связывания выбирают из группы, состоящей из K21, R28, Q115, R117, E118, Q120, T132, K133, N134, Q135, S137, K143, E153, E155, S156, G158, Y164, K165, T166, D172, S173, D174, S176, K182, L183, T184, V185, K187, S188, Q191, Q192, G193, V195, F196, S197, S199, Q211, S213, S215, L216, S217, P218, G219 и K220, со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

Дополнительные библиотеки созревания для улучшения аффинности СН3С.35

Для идентификации комбинаций мутаций из библиотеки "NNK дорожка" генерировали дополнительную библиотеку с добавлением нескольких дополнительных положений на их периферии, как описано выше для библиотек дрожжей. В этой библиотеке мотивы YxTEWSS и TxxExxxxF оставались константыми, а шесть положений были полностью рандомизированы:E153, K165, K187, S188, S197 и S199. Положения E153 и S188 были включены, потому что они были "горячими точками" в библиотеке "NNK дорожка". Положения K165, S197 и S199 были включены, потому что они составляют часть ядра, которая может позиционировать область связывания, в то время как K187 был выбран из-за его смежности с положением 188.

Эта библиотека была отсортирована, как описано выше, только с апикальным

доменом TfR яванского макака. Обогащенный пул сиквенировали после пяти циклов, при этом последовательности областей CH3 идентифицированных уникальных клонов представлены в SEQ ID NO: 248-265.

<u>Исследование приемлемого разнообразия в исходном регистре и горячих точках</u> для CH3C.35.21

Следующие библиотеки были предназначены для изучения всего приемлемого разнообразия в основном связывающем паратопе. Применяемый подход был похож на библиотеки "NNK дорожка"Каждое из исходных положений регистра (157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194) плюс две горячие точки (153 и 188) были индивидуально рандомизированы с кодонами NNK для генерации серии библиотек насыщающего мутагенеза в одном положении на дрожжах. Кроме того, каждое положение было индивидуально реверсировано в остаток дикого типа, и эти отдельные клоны были отображены на дрожжах. Фиг. 23 демонстрирует связывание родительского клона СН3С.35.21 по сравнению с реверсиями в дикий тип и библиотеками NNK с одним положением. Было отмечено, что положения 153, 162, 163 и 188 были единственными положениями, которые сохраняли существенное связывание с TfR при реверсии в остаток дикого типа (некоторое остаточное, но сильно уменьшенное связывание наблюдалось при реверсии положения 186 в дикий тип).

Библиотеки NNK с одним положением сортировали в течение трех циклов в отношении апикального домена TfR человека, чтобы собрать верхние ~ 5% связующих элементов, и затем из каждой библиотеки сиквенировали по меньшей мере 16 клонов. Результаты демонстрируют, какие аминокислоты в каждом положении могут присутствовать без значительного уменьшения связывания с TfR человека в контексте клона CH3C.35.Обобщенные результаты представлены ниже:

Положение 153: Trp, Leu или Glu;

Положение 157: Туг или Phe;

Положение 159: только Thr;

Положение 160: только Glu;

Положение 161: только Тгр;

Положение 162: Ser, Ala или Val (следует обратить внимание, что хотя остаток Asn дикого типа, похоже, сохраняет некоторое связывание, он не появился после сортировки библиотеки);

Положение 163: Ser или Asn;

Положение 186: Thr или Ser;

Положение 188: Glu или Ser;

Положение 189: только Glu; и

Положение 194: только Phe.

Вышеуказанные остатки при замене в клон CH3C.35 в виде единичных изменений или в комбинациях представляют паратопическое разнообразие, которое сохраняет связывание с апикальным доменом TfR. Клоны, имеющие мутации в этих положениях, приведены в Таблице 9, а последовательности CH3-доменов этих клонов представлены в SEQ ID NO: 237-241, 264 и 266-296.

Слияния "одновалентный полипептид-Fab"

а. Генерация слияний "одновалентный TfR-связывающий полипептид-Fab"

Хотя Fc естественным образом образуют домены гомодимеры, ряд асимметричных мутаций, известных как "выступы в отверстия", могут привести к преимущественной гетеродимеризации двух Fc фрагментов, при этом одна единица Fc имеет мутацию "выступа" T139W (что соответствует положению 366 с применением схемы нумерации EU), а другая единица Fc имеет мутации "отверстия" T139S, L141A и Y180V (положения 366, 368 и 407, соответственно, с применением схемы нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный СН3домен по данному изобретению содержит Тгр в положении 139. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный СН3-домен по данному изобретению содержит Ser в положении 139, Ala в положении 141 и Val в положении 180. Гетеродимерные TfR-связывающие полипептиды экспрессировали в клетках 293 или СНО путем временной котрансфекции двух плазмид (то есть выступ-Fc и отверстие-Fc), тогда как слияния "полипептид-Fab" экспрессировали путем временной котрансфекции трех плазмид (то есть тяжелая цепь выступ-Fc-Fab, тяжелая цепь отверстие-Fc-Fab и общая легкая цепь). Очистку секретируемых гетеродимерных полипептидов или слияний "полипептид-Fab" выполняли идентично таковой для гомодимеров (то есть двухколоночная очистка с применением белка А с последующим исключением по размеру, а затем концентрированием и заменой буфера при необходимости). Массспектрометрию или хроматографию с гидрофобным взаимодействием применяли для определения количества образовавшегося гетеродимера по сравнению с гомодимером (например, парные Fc: выступ-выступ или отверстие-отверстие). Из типовых продуктов, более чем 95% полипептидов, и часто более чем 98%, были гетеродимерами. Для ясности, все одновалентные связующие TfR (Fc гомодимеры), полученные таким образом, были названы "ZZ.mono", где ZZ представляло собой название полипептида, а ".mono" обозначало одновалентное связывание TfR. Для гетеродимерных полипептидов и слияний "полипептид-Fab", мутации, которые обеспечивали связывание TfR, включали мутацию

"выступа", тогда как не связывающуюся с TfR область Fc применяли с областью "отверстия", если не указано иное. В некоторых случаях дополнительные мутации, которые изменяют свойства Fc, также включали в эти конструкции, такие как L7A/L8A, M25Y/S27T/T29E, N207S или N207S/M201L для модифицированного связывания FcγR или FcRn, соответственно.

а. Характеристика связывания СН3С.топо Fc полипептидов

Связывание одновалентных СНЗС полипептидов измеряли в ИФА с применением модификации процедуры, описанной выше. Стрептавидин наносили на 96луночные планшеты для ИФА на ночь в концентрации 1 мкг/мл в PBS. После промывания 1% BSA планшеты блокировали с применением PBS, биотинилированный TfR человека или яванского макака в концентрации 1 мкг/мл и инкубировали в течение 30 минут. После дополнительного промывания полипептиды добавляли на планшеты при серийных разведениях и инкубировали в течение 1 часа. Планшеты промывали и добавляли вторичное антитело (то есть анти-каппа-HRP, 1: 5000) в течение 30 минут, и планшеты снова промывали. На планшеты наносили подложку ТМВ и гасили с применением 2N H₂SO₄, и затем с помощью планшет-ридера ВіоТек[®] считывали поглощение при 450 нм. Результаты продемонстрированы на Фиг. 24, на которой непосредственно сравниваются стандартные (то есть двухвалентные TfRсвязывающие) и одновалентные TfR-связывающие полипептиды. Ab204 представляет собой высокоаффинное антитело анти-TfR.

Проводили дополнительное тестирование на предмет связывания с клетками 293F, которые эндогенно экспрессируют TfR человека, а также с клетками CHO-K1, которые стабильно трансфицировались TfR человека или TfR яванского макака (Фиг. 25).

В целом, по сравнению с двухвалентными полипептидами, наблюдалось существенно сниженное связывание с TfR человека, при этом связывание с TfR яванского макака было слишком слабым, чтобы быть обнаруженным в этих анализах для одновалентных полипептидов.

Затем было протестировано, могут ли одновалентные версии полипептидов СНЗС интернализоваться в клетках НЕК293, экспрессирующих TfR человека. Применяли способы, описанные выше для анализа интернализации. Как продемонстрировано на Фиг. 26, на которой сравниваются двухвалентные и одновалентные полипептиды, одновалентные пептиды также могут интернализоваться, но общий сигнал был слабее, чем для соответствующих двухвалентных версий, предположительно из-за потери аффинности/авидности связывания.

а. Кинетика связывания полипентидов СН3С, измеренная с помощью биослойной интерферометрии

Кинетику связывания определяли для нескольких вариантов одновалентного и двухвалентного полипептида СН3С, слитых с анти-ВАСЕ1 Fab, и сравнивали с их двухвалентными эквивалентами с помощью биослойной инферометрии (то есть, с применением системы Octet® RED). TfR улавливали на стрептавидиновом сенсоре, затем полипептиды СН3С связывали и отмывали. Сенсограммы были установлены на модель связывания 1:1; значение K_D (арр) для двухвалентных полипептидов представляло авидное связывание с димером TfR. Результаты приведены в Таблице 10 и на Φ иг. 27 и 28.

Таблица 10. Кинетика для полипептидов CH3C, определенная с помощью Octet® Red

Полипептид	K _D (арр) (нМ) [TfR человека]	K _D (арр) ((нМ) [TfR яванского макака]
CH3C.35.N163	67	374
CH3C.35.N163.mono	251	Н. Д.
CH3C.35	59	934
CH3C.35.mono	483	н. д.
CH3C.3.2-1	337	367
CH3C.3.2-5	270	385
CH3C.3.2-19	367	454

н. д. = не определено из-за слишком низкого сигнала связывания

Полипептиды, которые были преобразованы в одновалентный формат, имели значительно более низкие значения K_D (арр) из-за потери авидности. Клоны CH3C.3.2-1, CH3C.3.2-5 и CH3C.3.2-19, которые, как ранее было продемонстрировано, имеют сходные характеристики связывания с TfR человека и яванского макака в ИФА, также имели очень сходные значения K_D (арр) между TfR человека и яванского макака. Была предпринята попытка протестировать одновалентные формы этих полипептидов, но связывание в этом анализе было слишком слабым для расчета кинетических параметров.

Пример 3. Характеристика связывания дополнительных вариантов CH3C с помощью Biacore[™]

Аффинность вариантов клона к апикальному домену рекомбинантного TfR определяли методом поверхностного плазмонного резонанса с помощью прибора $\text{Biacore}^{^{\text{тм}}}$ T200. Сенсорные чипы $\text{Biacore}^{^{\text{тм}}}$ серии S CM5 иммобилизовали антителом против Fab человека (набор для захвата Fab человека от компании GE Healthcare). 5

мкг/мл слияния "полипептид-Fab" захватывали в течение 1 минуты на каждой проточной ячейке и вводили серийные 3-кратные разведения апикального домена человека или яванского макака при скорости потока 30 мкл/мин при комнатной температуре. Каждый образец анализировали с 45-секундной ассоциацией и 3-минутной диссоциацией. После каждого введения чип регенерировали с применением 10 мМ глицина-HCl (pH 2,1). Ответ связывания корректировали путем вычитания единиц ответа (RU) из проточной ячейки, захватывающей нерелевантный IgG при аналогичной плотности. Показатели установившейся аффинности получали путем подгонки ответа в равновесном состоянии к концентрации с помощью программного обеспечения Вiacore™ T200 Evaluation v3.1.

Для определения аффинности вариантов клона к рекомбинантному эктодомену TfR (ECD), сенсорные чипы Biacore™ серии S CM5 иммобилизовали стрептавидином. Биотинилированный TfR ECD человека или яванского макака захватывали в течение 1 минуты на каждой проточной ячейке и вводили серийные 3-кратные разведения вариантов клона при скорости потока 30 мкл/мин при комнатной температуре. Каждый образец анализировали с 45-секундной ассоциацией и 3-минутной диссоциацией. Ответ связывания корректировали путем вычитания единиц ответа (RU) из проточной ячейки без TfR ECD при аналогичной плотности. Показатели установившейся аффинности получали путем подгонки ответа в равновесном состоянии к концентрации с помощью программного обеспечения Biacore™ T200 Evaluation v3.1.

Показатели аффинности связывания приведены в Таблице 11. Показатели аффинности получали путем подгонки в стационарном состоянии.

Таблица 11. Показатели аффинности связывания для дополнительных вариантов СН3С

Клон	TfR человека (мкМ)	TfR яванского макака (мкМ)	Апикальный TfR человека (мкМ)	Апикальный TfR яванского макака (мкМ)
CH3C.35.19.mono	0,4	5,9	0,37	5,6
CH3C.35.20.mono	0,25	6,7	0,17	8
CH3C.35.21.mono	0,1	2,1	0,12	2,2
CH3C.35.24.mono	0,29	3,3	0,23	3
CH3C.35.21.11.mono	0,24	4	0,13	2,2
CH3C.35.21.16.mono	0,18	1,8	0,12	1,9
CH3C.35.21.17.mono	0,3	2,9	0,13	2,6
CH3C.35.mono	0,61	>10	0,61	>10
CH3C.35.N153.mono	0,42	>10	0,95	>10
CH3C.35.bi	0,22	>2	не тестировали	не тестировали

Клон	TfR человека (мкМ)	ТfR яванского макака (мкМ)	Апикальный TfR человека (мкМ)	Апикальный TfR яванского макака (мкМ)
CH3C.35.N153.bi	0,37	3,3	не тестировали	не тестировали
CH3C.3.2-19.bi	5,2	5,6	не тестировали	не тестировали
CH3C.35.19.bi	0,074	1,5	не тестировали	не тестировали
CH3C.35.20.bi	0,054	1,7	не тестировали	не тестировали
CH3C.35.21.bi	0,049	0,7	не тестировали	не тестировали
CH3C.35.24.bi	0,061	0,65	не тестировали	не тестировали

Создавали дополнительные варианты СН3С.35.20.1.1, СН3С.35.23.2.1, СН3С.35.23.1.1, СН3С.35.8413, СН3С.35.23.3.1, СН3С.35.N390.1 и СН3С.35.23.6.1, а их аффинность связывания с ТfR человека измеряли по тому же протоколу, как описано ранее. Показатели аффинности связывания СН3С.35.20.1.1, СН3С.35.23.2.1, СН3С.35.23.1.1, СН3С.35.8413, СН3С.35.23.3.1, СН3С.35.N390.1 и СН3С.35.23.6.1 составляли 620 нМ, 690 нМ, 750 нМ, 1700 нМ, 1900 нМ, 2000 нМ и 2100 нМ соответственно.

Пример 4. Характеристика связывания вариантов CH3C с FcRn

Анализы связывания FcRn проводили с помощью прибора FortéBio® Octet® RED384 с применением нием FortéBio® стрептавидиновых биосенсоров FortéBio® . Биотинилированный рекомбинантный BACE1 разводили до концентрации 10 мкг/мл в кинетическом буфере (полученном от компании FortéBio®) и захватывали на отдельные биосенсоры в течение 1 минуты. Затем устанавливали исходный уровень в течение 1 минуты в кинетическом буфере. 10 мкг/мл слияний "полипептид-Fab" (содержащих анти-BACE1 Fab плечи) связывали с наконечниками сенсора в присутствии или в отсутствие 1 мкМ TfR ECD человека. Связывание рекомбинантного FcRn (pH 5,5) человека с иммобилизованным слиянием "полипептид-Fab" анализировали с 3-минутной ассоциацией и 3-минутной диссоциацией.

Сенсограммы, полученные из этих экспериментов (Фиг. 29), указывают на то, что варианты слияния "полипептид-Fab", связывались с FcRn при кислотном pH (pH 5,5), и что связывание TfR заметно не влияет на связывание FcRn.

Пример 5. Характеристика фармакокинетики/фармакодинамики вариантов СНЗС

Этот пример описывает характеристику фармакокинетики/фармакодинамики (Φ К/ Φ Д) вариантных полипептидов СН3С по данному изобретению в плазме и ткани головного мозга мыши.

Фармакокинетика вариантов СНЗС в плазме мыши дикого типа

Фармакокинетику (ФК) анализировали для нескольких вариантов СНЗС у мышей дикого типа, чтобы продемонстрировать стабильность vivo в модели, в которой отсутствует TfR-опосредованный клиренс, поскольку слияния "полипептид-Fab" связывают только TfR человека, а не TfR мыши. Дизайн исследования приведен в Таблице 12 ниже. Мышам С57Вl6 в возрасте 6-8 недель внутривенно вводили дозы, и прижизненно отбирали кров из поднижнечелюстной области в моменты времени, указанные в Таблице 12. Кровь собирали в пробирки для плазмы с ЭДТК, центрифугирровали при 14000 об/мин в течение 5 минут, и затем выделяли плазму для последующего анализа.

Группа	Полипептид	Моменты времени	N	Доза (в/в)
1A/1B	Ab122	A = 30 мин, 24 ч, 4 д B = 4 ч, 2 д, 7 д	A=2 B=3	12,3 мг/кг
2A/2B	Ab153	A = 30 мин, 24 ч, 4 д B = 4 ч, 2 д, 7 д	A=2 B=3	11,4 мг/кг
3A/3B	CH3C.35.163 mono (Ab153 слияние)	A = 30 мин, 24 ч, 4 д B = 4 ч, 2 д, 7 д	A=2 B=3	11,4 мг/кг
4A/4B	СН3С.3.2-19 (Аb153 слияние)	A = 30 мин, 24 ч, 4 д B = 4 ч, 2 д, 7 д	A=2 B=3	11,0 мг/кг
5A/5B	СН3С.3.2-5 (Ab153 слияние)	A = 30 мин, 24 ч, 4 д B = 4 ч, 2 д, 7 д	A=2 B=3	10,5 мг/кг
6A/6B	СН3С.3.2-1 (Ab153 слияние)	A = 30 мин, 24 ч, 4 д B = 4 ч, 2 д, 7 д	A=2 B=3	10,0 мг/кг

Таблица 12. Дизайн исследования ФК

Аb122 служило в качестве контроля анти-RSV, который характеризуется нормальной ФК у мышей. Ab153служило в качестве контроля анти-BACE1, который характеризуется нормальной ФК у мышей. В этом исследовании Fab плечи антитела Ab153 сливали с полипептидами.

Концентрации полипептида в плазме мыши количественно определяли с помощью генерического анализа IgG человека (набор $MSD^{\text{®}}$ для анализа IgG человека # K150JLD-4) в соответствии с инструкциями производителя. Вкратце, предварительно покрытые планшеты блокировали в течение 30 минут с помощью $MSD^{\text{®}}$ Blocker A.

Образцы плазмы разбавляли 1: 2500 с помощью устройства для манипуляций с жидкостями Hamilton® NIMBUS и добавляли в двух повторениях к блокированным планшетам. С целью подтверждения правильности дозировки, дозировочные растворы также анализировали на том же планшете. Стандартную кривую, 0,78-200 нг/мл IgG, аппроксимировали с помощью четырехпараметрической логистической регрессии. На Фиг. 30 и в Таблице 13 приведен анализ этих данных. Все варианты полипептида СНЗС имели значения клиренса и времени полужизни, сопоставимые со стандартным Ab122, за исключением СНЗС.3.2-5, который имел значительно более быстрый клиренс и более короткий период полужизни. Представляет интерес то, что этот вариант был точечным мутантом СНЗС.3.2-19 (N163D), последний из которых имел нормальный профиль ФК.

Таблица 13. Параметры ФК для слияний "CH3C полипептид -Fab"

Полипептид	Клиренс (мл/сут/кг)	Период полужизни (дней)
Ab122	6,12	9,12
Ab153	9,11	4,74
CH3C.35.N163 mono (Ab153 слияние)	8,44	5,35
CH3C.3.2-19 (Ab153 слияние)	10,3	5,42
CH3C.3.2-5 (Ab153 слияние)	21,0	1,90
CH3C.3.2-1 (Ab153 слияние)	9,25	4,65

Дополнительное исследование ФК на мышах дикого типа

Второе исследование ФК проводили на мышах дикого типа в соответствии с дизайном исследования, приведенным в Таблице 14 ниже (все слияния "полипептид-Fab" с Ab153 Fab):

Таблица 14

Полипептид	Доза (мг/кг)	Момент времени	п/группу
Ab153	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3
CH3C.35.21.mono	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3
CH3C.35.24.mono	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3
CH3C.35.21.16.mono	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3
CH3C.35.21.17.mono	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3
CH3C.35.20.bi	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3
CH3C.35.21.bi	10	0,5 ч, 1 д, 4 д, 7 д	3

Мыши и образцы обрабатывали, как описано в предыдущем исследовании. Данные приведены в Таблице 15.

Анализируемый полипептидКлиренс (мл/сут/кг)Ab1539,53CH3C.35.21.mono8,99CH3C.35.24.mono9,00CH3C.35.21.16.mono11,6CH3C.35.21.17.mono10,9CH3C.35.20.bi7,13

CH3C.35.21.bi

Таблица 15. Значения клиренса для слияний "CH3C.35 полипептид-Fab"

Как видно из значений клиренса, эти слияния "полипептид-Fab" демонстрировали сходный клиренс у мышей дикого типа по сравнению со стандартным контрольным антителом.

11,6

Оценка ФК/ФД одновалентного CH3C.35.N163 в ткани головного мозга мыши дикого типа

Трансгенные мыши, экспрессирующие *Tfrc* апикальный домен человека внутри мышиного *Tfrc* гена, генерировали с помощью технологии CRISPR/Cas9. Полученный химерный TfR экспрессиировали *in vivo* под контролем эндогенного промотора.

Химерным huTfR^{apical} гетерозиготным мышам (n = 4 / группу) внутривенно вводили 42 мг/кг Ab153 или одновалентного CH3C.35.N163, а мышам дикого типа (n = 3) внутривенно вводили 50 мг/кг контрольного IgG1 человека. Ab153 служило в качестве контроля, который характеризуется нормальной ФК у мышей. Всех мышей перфузировали PBS через 24 часа после введения дозы. Перед перфузией кровь собирали в пробирки для плазмы с ЭДТК с помощью пункции сердца и центрифугировали при 14000 об/мин в течение 5 минут. Затем плазму выделяли для последующего анализа ФК и ФД. После перфузии извлекали ткани головного мозга, и выделяли полушария для гомогенизации в 10-кратном, относительно веса ткани, объеме 1% NP-40 в PBS (для ФК) или 5 М GuHCl (для ФД).

На Фиг. 31 продемонстрированы результаты исследования ФК головного мозга. Поглощение было более значительным в группе, получавшей одновалентный CH3C.35.N163 по сравнению с группой, получавшей Ab153, и группой получавшей контрольный IgG1 человека.

ФК/ФД слияний "полипептид-Fab" в головном мозге и плазме у мышей hTfR^{apical+/+}: CH3C.35.21 и CH3C.35.N153

Гомозиготным hTfR^{apical+/+} мышам внутривенно вводили 50 мг/кг либо антитела Ab153 анти-BACE1, биспецифического антитела Ab116 анти-TfR/BACE1,

CH3C.35.21.mono, слитого с Ab153 Fab, либо CH3C.35.N153.mono, слитого с Ab153 Fab, как указано в дизайне исследования в Таблице 16. В этом исследовании все Fc имели мутации LALAPG для удаления эффекторных функций.

Таблица 16. Дизайн исследования для одномоментного исследования ФК/ФД в головном мозге и плазме

Полипептид	Аффинность hTfR (нМ)	Доза (мг/кг)	Момент времени (день)	п/группу
Ab153	н/д	50	1	8
Ab116	330	50	1	8
CH3C.35.21.mono	160	50	1	8
CH3C.35.N153.mono	370	50	1	8

Через 24 часа кровь собирали с помощью пункции сердца и мышей перфузировали PBS. Ткань мозга гомогенизировали в 10-кратном, относительно веса ткани, объеме буфера для лизиса, содержащего 1% NP-40 в PBS. Кровь собирали в пробирки с ЭДТК для предотвращения свертывания и центрифугировали при 14000 об/мин в течение 7 минут для выделения плазмы. Концентрации полипептида в плазме и лизатах ткани головного мозга мыши количественно определяли с помощью генерического анализа IgG человека (набор MSD для анализа IgG человека # K150JLD-4) в соответствии с инструкциями производителя. Вкратце, предварительно покрытые планшеты блокировали в течение 30 минут с помощью MSD Blocker A. Образцы плазмы разбавляли 1: 10000 с помощью устройства для манипуляций с жидкостями Hamilton NIMBUS и добавляли в двух повторениях к блокированным планшетам. Образцы ткани мозга гомогенизировали в 1% буфера для лизиса NP40, а лизаты разводили 1:10 для анализа ФК. С целью подтверждения правильности дозировки, дозировочные растворы также анализировали на том же планшете. Стандартную кривую, 0,78-200 нг/мл IgG, аппроксимировали с помощью четырехпараметрической логистической регрессии.

Через 24 часа уровни TfR-связывающих полипептидов в плазме были ниже, чем уровни для анти-BACE1, вероятно, из-за клиренса этого антитела посредством связывания с периферически экспрессируемыми hTfR^{apical} (Фиг. 32A). В мозге наблюдалось значительное увеличение концентрации анти-TfR/BACE1 по сравнению с анти-BACE1 (Фиг. 32B). Наибольшее увеличение наблюдалось для CH3C.35.21.mono, но также значительно улучшилось поглощение мозгом по сравнению с анти-BACE с CH3C35. N153.bi. Значительное накопление сконструированных TfR-связывающих полипептидов было обусловлено TfR-опосредованным трансцитозом на гематоэнцефалическом барьере, что подтверждает правильность применения конструирования TfR-связывания в Fc-

области.

ВАСЕ1-ингибирование расщепления белка-предшественника амилоида APP применяли в качестве фармакодинамического показателя активности антител в плазме и головном мозге. Ткань головного мозга гомогенизировали в 10-кратном, относительно веса ткани, объеме 5 М гуанидина-HCl и затем разбавляли 1:10 в 0,25% казеиновом буфере в PBS. Уровни Аβ40 в плазме и лизате головного мозга у мышей измеряли с помощью сэндвич-ИФА. 384-луночный планшет MaxiSorp покрывали в течение ночи поликлональным захватывающим антителом, специфичным для С-конца пептида Аβ40 (Millipore # ABN240). Разбавленные казеином лизаты головного мозга с гуанидином дополнительно разводили в соотношении 1:2 на планшете для ИФА и добавляли одновременно с детектирующим антителом, биотинилированным МЗ. 2. Плазму анализировали в разведении 1:5. Образцы инкубировали в течение ночи при 4°С перед добавлением стрептавидина-HRP с последующим добавлением субстрата ТМВ. Стандартную кривую, 0,78 - 50 пг/мл msАβ40, аппроксимировали с помощью четырехпараметрической логистической регрессии.

Уровень белок бета-амилоид (Abeta) в плазме был снижен в одинаковой степени для всех полипептидов по сравнению с необработанными мышами дикого типа (Фиг. 33А) из-за присутствия анти-BACE1 Fab плечей на всех полипептидах. По сравнению с анти-BACE1, воздействие TfR-связывающими полипептидами приводило к более интенсивному снижению уровня Abeta в hTfR^{арісаl+/+} мышей, указывая на то, что связывание с мишенью BACE1 в головном мозге было достигнуто (Фиг. 33В). Уровень связывания мишени в головном мозге был сходным для сконструированных слитых полипептидов и биспецифического антитела анти-TfR/BACE1.

ФК/ФД слияний "полипептид-Fab" в головном мозге и плазме у мышей hTfR^{apical+/+}:CH3C.35.21, CH3C.35.20, CH3C.35, CH3C.35.23, CH3C.35.23.3

С целью оценки влияния аффинности связывания TfR на ФК и поглощение головным мозгом, генерировали слияния анти-BACE1 Ab153 с TfR-связывающими полипептидами (слияния CH3C.35.21:Ab153, CH3C.35.20:Ab153, CH3C.35:Ab153), которые различались по своей аффинности связывания с апикальным TfR человека, что измеряли с помощью Biacore. Показатели аффинности связывания слияний CH3C.35.21: Ab153, CH3C.35.20: Ab153, CH3C.35: Ab153 с TfR человека составляли 100 нМ, 170 нМ и 620 нМ соответственно. Мышам с нокином hTfRapical^{+/+} вводили системно либо Ab153, либо слияния "полипептид-Fab" в дозе 50 мг/кг, и оценивали ФК в плазме и ФК/ФД в головном мозге через 1, 3 и 7 дней после введения дозы. Анализ ФК/ФД в головном мозге и плазме проводили, как описано в предыдущем разделе. Из-за экспрессии TfR на

периферических тканях, слияния CH3C.35.21:Ab153, CH3C.35.20:Ab153 и CH3C.35:Ab153 демонстрировали более быстрый клиренс в плазме по сравнению с Ab153, применяемым отдельно, что согласуется с клиренсом, опосредованным мишенью, и указывает на связывание TfR in vivo (Фиг. 44A). Представляет интерес тот факт, что концентрации слияний CH3C.35.21: Ab153, CH3C.35.20: Ab153 и CH3C.35: Ab153 в головном мозге были значительно выше по сравнению с Ab153, достигая максимальной концентрации в головном мозге более 30 нМ через 1 день после введения дозы, по сравнению с только около 3 нМ для Ab153 в этот же момент времени (Фиг. 44B). Увеличение воздействия на головной мозг слияний CH3C.35.21: Ab153, CH3C.35.20: Ab153 и CH3C.35: Ab153 приводило к снижению уровней эндогенного АВ у мышей в головном мозге на около 55-60% по сравнению с уровнями АВ у мышей, которым вводили Ав153 (Фиг. 44С). Более низкие уровни АВ в головном мозге сохранялись, в то время как концентрации слияний CH3C.35.21: Ab153, CH3C.35.20: Ab153 и CH3C.35: Ab153 оставались повышенными в головном мозге и возвращались к уровням, аналогичным уровням у мышей, получавших Ab153, при снижении воздействия ко дню 7. Снижение воздействия на головной мозг со временем коррелировало с уменьшением периферического воздействия слияний CH3C.35.21: Ab153, CH3C.35.20: Ab153 и CH3C.35: Ab153, обеспечивая четкую связь ФК/ФД in vivo (сравните Фиг. 44A и 44C). Кроме того, общие уровни TfR в головном мозге были сопоставимы для мышей, получавших Ab153 и слияние "полипептид-Fab", после этой однократной высокой дозы, что указывает на отсутствие значительного влияния повышенного воздействия слияний "полипептид-Fab" на экспрессию TfR в головном мозге (Фиг. 44D).

С целью дальнейшей оценки взаимосвязи между ФК и поглощением головным мозгом с более широким диапазоном аффинности ТfR-связывающих слияний "полипептид-Fab", генерировали дополнительные слияния с более широким диапазоном аффинности для связывания hTfR. Показатели аффинности связывания слияний CH3C.35.23:Ab153 и CH3C.35.23.3:Ab153 с TfR человека составляли 420 нМ и 1440 нМ соответственно. Мышам с нокином hTfRapical** вводили дозу, как описано выше. ФК в плазме и ФК/ФД в головном мозге оценивали через 1, 4, 7 и 10 дней после введения дозы. Периферическая ФК слияний "полипептид-Fab" была зависимой от аффинности hTfR, при этом слияние CH3C.35.23: Ab153 с более высокой аффинностью демонстрировало более быстрый клиренс по сравнению со слиянием CH3C.35.23.3: Ab153 с гораздо более низкой аффинностью (Фиг. 45A). Оба слияния CH3C.35.23: Ab153 и CH3C.35.23: Ab153 характеризовались значительно большим воздействием на головной мозг, чем по сравнению с Ab153, вводимым отдельно, при этом концентрация CH3C.35.23: Ab153 в

головном мозге достигала около 36 нМ в день 1 после введения дозы (Фиг. 45В). Несмотря на сходные концентрации в плазме, это максимальное поглощение головным мозгом слияния CH3C.35.23.3: Ab153 было ниже, чем поглощение слияния CH3.35. 23: Ab153, вероятно, из-за примерно в 3,5 раза более низкой аффинности последнего слияния к hTfR. Представляет интерес тот факт, что из-за того, что слияние с более низкой аффинностью обеспечивало более устойчивое периферическое воздействие ко дню 10, воздействие на головной мозг также было выше, чем у слияния CH3C.35.23: Ab153 с более высокой аффинностью. Это иллюстрирует вариант соотношения между более низкими значениями Стах в головном мозге и более устойчивой ФК с течением времени для TfR-связывающих слияний "полипептид-Fab" с более низкой аффинностью связывания. Значительно более низкие концентрации АВ40 наблюдались в головном мозге мышей, которым вводили слияния "анти-ВАСЕ1-полипептид", по сравнению с анти-ВАСЕ1 отдельно (Фиг. 45С). Эта продолжительность снижения концентрации Аβ40 соответствовала уровням воздействия huIgG1 в головном мозге с течением времени (Фиг. 45В). Представляет интерес тот факт, что мыши, которым вводили слияние СН3С.35: Аb153, демонстрировали длительное снижение концентрации Аβ40 в головном мозге до 7-10 дней после однократного введения дозы. Общие уровни TfR в головном мозге были сопоставимы между мышами, которым вводили Ab153, по сравнению со слиянием СН3С.35: Ab153, в день 1 после введения дозы (Фиг. 45D). Вместе взятые эти данные демонстрируют, что слияние с TfR-связывающим полипептидом может повышать воздействие анти-ВАСЕ1 на мозг со значительным снижением концентрации Аβ40 в головном мозге после однократного введения дозы.

Пример 6. CH3C.18 Fc и кристаллизация апикального домена трансферринового рецептора

В этом примере описывается кристаллизация и анализ поверхности связывания между CH3C.18 и апикальным доменом трансферринового рецептора (TfR-AD).

Экспрессия

Апикальный домен трансферринового рецептора человека (TfR-AD) и сконструированный Fc человека (CH3C.18 Fc) экспрессировали (SEQ ID NO: 301 и 302 соответственно) в клетках Ехрі293 при начальной плотности клеток 2,5х 10⁶ клеток/мл. Экспрессии осуществляли в объемах 200 мл или более, по мере необходимости. Кифунензин, ингибитор гликозилирования, добавляли через 20 часов после трансфекции в конечной концентрации 25 мкМ. Экспрессионные культуры собирали через 3-4 дня после трансфекции, когда жизнеспособность клеток значительно снижалась.

Очистка

Экспрессированные TfR-AD и CH3C.18 Fc очищали с помощью смол с белком A и Ni-NTA соответственно с последующей эксклюзионной хроматографией по размеру на колонке для гель-фильтрации Superdex200 26/60. Применяли следующие буферы:

Белок А промывочный буфер: 20 мМ Hepes pH 7,4, 100 мМ NaCl;

Белок А элюирующий буфер:30 мМ глицина, pH 2,5 (элюат собирали в пробирку, содержащую 1М Трис, pH 9,0, для немедленной нейтрализации элюата);

Ni-NTA промывочный буфер:30 мМ Трис рH, 10 мМ имидазола и 200 мМ NaCl;

Ni-NTA элюирующий буфер:30 мМ Трис, pH 8,0, 200 мМ NaCl и 250 мМ имидазола; а также

Буфер для эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC):30 мМ HEPES pH 7,5, 200 мМ NaCl и 3% глицерина.

Комплексное составление и очистка

Очищенные TfR-AD и CH3C.18 Fc смешивали с избытком апикального домена, инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа и комплекс очищали с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру на колонке для гель-фильтрации Superdex200 26/60 с применением ранее упомянутого буфер для SEC . В результате определения размерности получили два основных пика, как и ожидалось; один соответствовал комплексу (удерживаемый объём = 180 мл), а другой соответствовал избыточному апикальному домену (удерживаемый объём = 240 мл). Фракции пиков анализировали с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза с гелем, окрашенным красителем Кумасси (Фиг. 34).

Кристаллизация

Скрининг на предмет первичной кристаллизации комплекса проводили методом диффузии паров в сидячей капле при 15°C и комнатной температуре (КТ) при концентрации белка 8,5 мг/мл. Множество тонких иголок кристаллов наблюдали в условиях, которые содержали 25% ПЭГ 3350, 0,1 М Трис, рН 8,5 и 0,2 М MgCl₂. Эти кристаллы применяли для затравки в тех же условиях, но с 20% ПЭГ 3350, для получения одиночных тонких иголок с устанавливаемым размером.

Сбор рентгеновских данных

Кристаллы подвергали мгновенному охлаждению путем прямого погружения в жидкий азот с применением маточного раствора для кристаллизации, дополненного 20% (o6/o6) этиленгликоля. Данные по интенсивности рентгеновского излучения собирали на линии луча SER-CAT усовершенствованного источника фотонов (APS) с помощью высокоскоростного детектора Rayonix 300. Кристаллы были дифрагированы до 3,6 Å и

принадлежали к гексагональной пространственной группе $P6_4$ с двумя комплексными молекулами в асимметричной единице (Таблица 17). Данные индексировали, интегрировали и масштабировали с помощью программы HKL2000. Данные, собранные от двух кристаллов, объединяли для получения данных 3,6 Å.

Таблица 17. Данные кристаллов для комплексной структуры CH3C.18 Fc-TfR-AD

Название/код		Комплекс CH3C.18 Fc- TfR-AD
Размеры клеток	a (Å)	124,3
	b	124,3
	С	113,1
	α (°)	90,0
	β	90,0
	γ	120,0
Пространственная группа		P6 ₄
Диапазон разрешения (Å)	Общий	50–3,6
	Последняя оболочка	3,71-3,6
Количество уникальных отражений		11259
Завершённость (%)	(Общая/Последняя оболочка)	95,9/74,1
R _{merge} ¹	(Общий/Последняя оболочка)	20/93
Уточненная статистика	Разрешение (Å)	50-3,6
	R factor ² /Rfree (%)	30/39

 $^{^{1}}$ R $_{merge} = \Sigma_{j}(\mid I_{h} - \langle I \rangle_{h} \mid) / \Sigma I_{h}$, где $- \langle I_{h} \rangle$ представляет собой среднюю

интенсивность по симметрии эквивалентов

Определение и усовершенствование структуры

Кристаллическую структуру комплекса определяли путем молекулярного замещения PHASER с применением CH3C.18 Fc димера и TFR-AD мономера в качестве исходных моделей поиска. Указанную модель совершенствовали путем усовершенствования абсолютно твердого тела с последующим усовершенствованием с помощью REFMAC. Все кристаллографические расчеты выполняли с помощью набора программ CCP4 (www. ccp4. ac. uk/). Встраивание модели комплекса в электронную плотность выполняли с помощью графической программы COOT. Электронная плотность для комплексной молекулы была хорошей, особенно на поверхности контакта CH3C.18

 $^{^{2}}$ R-factor = $\Sigma \mid F_{obs}$ - $F_{calc} \mid / \Sigma \mid F_{obs} \mid$

Fc-TfF-AD (2Fo-Fc карта, контурированная до 1,2 сигма уровня). После итеративного построения и усовершенствования модели, отмечали высокие значения R и freeR (R/freeR = 0,30/0,39) из-за низкого разрешения данных и неупорядоченного CH2-домена. Неупорядоченность CH2, обнаруженная в других доступных Fc структурах, была обусловлена гибким углом колена между доменами CH2 и CH3.

Взаимодействия поверхностей связывания

Поверхность связывания между CH3C.18 Fc и TfR-AD изображена на Фиг. 35A - 35B и на Фиг. 36A-36B. Как проиллюстрировано на Фиг. 37A-37B, взаимодействия наблюдались между:

- а. Trp154 из CH3C.18 и Arg208 из TfR-AD;
- b. Glu155 из CH3C.18 и Arg208 из TfR-AD;
- с. Ser156 из CH3C.18 и Arg208 и Leu212 из TfR-AD;
- d. Leu157 из CH3C.18 и Ser 199 и Asn215 из TfR-AD;
- e. His159 из CH3C.18 и Lys188, Ser199, и Arg208 из TfR-AD;
- f. Val160 из CH3C.18 и Gly207 и Arg208 из TfR-AD;
- g. Trp161 из CH3C.18 и Arg208, Val210,и Leu212 из TfR-AD;
- h. Ala162 из CH3C.18 и Arg208 из TfR-AD;
- i. Val163 из CH3C.18 и Leu209 из TfR-AD;
- j. Ser188 из CH3C.18 и Tyr211 из TfR-AD;
- k. Thr189 из CH3C.18 и Tyr211 и Leu212 из TfR-AD;
- 1. Gln192 из CH3C.18 и Lys158 и Glu294 из TfR-AD;
- m. Trp194 из CH3C.18 и Leu212, Val213, Glu214, и Asn215 из TfR-AD; а также
- n. Phe196 из CH3C.18 и Arg208 из TfR-AD.

Кроме того, как описано в разделе "Картирование паратопов" Примера 2 и как продемонстрировано на Фиг. 37А-37В, несколько положений вне регистра СН3С также участвуют в связывании с TfR.

Пример 7. CH3C.35 Fc и кристаллизация апикального домена трансферринового рецептора

В этом примере описывается кристаллизация и анализ поверхности связывания между CH3C.35 и апикальным доменом трансферринового рецептора (TfR-AD).

Экспрессия

Апикальный домен трансферринового рецептора человека (TfR-AD) и сконструированный Fc человека (CH3C.35 Fc) экспрессировали (SEQ ID NO: 301 и 421 соответственно) в клетках CHO при начальной плотности клеток 2,5 х 10⁶ клеток/мл.

Экспрессии осуществляли в объемах 500 мл или более, по мере необходимости. Экспрессионные культуры собирали через 3-4 дня после трансфекции, когда жизнеспособность клеток значительно снижалась.

Очистка

Экспрессированные TfR-AD и CH3C.35 Fc очищали с помощью смол с белком A (Genescript) и Ni-NTA (Sigma) соответственно с последующей эксклюзионной хроматографией по размеру на колонке для гель-фильтрации Superdex200 26/60. Применяли следующие буферы:

Белок А элюирующий буфер:30 мМ глицина, pH 2,5 (элюат собирали в пробирку, содержащую 1М Трис, pH 9,0, для немедленной нейтрализации элюата);

Ni-NTA элюирующий буфер:30 мМ Трис, pH 8,0, 200 мМ NaCl и 250 мМ имидазола; а также

Буфер для эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC):30 мМ HEPES pH 7,5, 150 мМ NaCl, 50 мМ KCl, 3% глицерина и 0,01% азида натрия.

Комплексное составление и очистка

Очищенные TfR-AD и CH3C.35 Fc смешивали с избытком апикального домена, инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа и комплекс очищали с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру на колонке для гель-фильтрации Superdex200 26/60 с применением ранее упомянутого буфер для SEC.

Кристаллизация

Скрининг на предмет первичной кристаллизации комплекса проводили методом диффузии паров в сидячей капле при 4° C, 15° C и при комнатной температуре (КТ). Множество тонких иголок кристаллов наблюдали в условиях, которые содержали 25% ПЭГ 3350, 0.1 М бис-трис, pH 6.5 и 0.2 М LiSO₄. Эти кристаллы применяли для затравки в тех же условиях, но с 20% ПЭГ 3350, для получения одиночных тонких иголок, и затравку повторяли последовательно четыре раза, чтобы получить кристаллы с устанавливаемым размером.

Сбор рентгеновских данных

Кристаллы подвергали мгновенному охлаждению путем прямого погружения в жидкий азот с применением маточного раствора для кристаллизации, дополненного 20% ($o\delta/o\delta$) этиленгликоля. Данные по интенсивности рентгеновского излучения собирали на линии луча IO4 Алмазного источника света (DLS) с помощью детектора PILATUS. Для сбора данных применяли микрофокусный пучок размером 5 микрон. Кристаллы были дифрагированы до 3,38 Å и принадлежали к гексагональной пространственной группе $P6_4$ с двумя комплексными молекулами в асимметричной единице (Таблица 18). Данные

индексировали, интегрировали и масштабировали с помощью пакета программ ССР4 (Xia2-XDS и XSCALE).

Таблица 18. Данные кристаллов для комплексной структуры CH3C.35 Fc-TfR-AD

, ,		Комплекс CH3C.35 Fc- TfR-AD
Размеры клеток	a (Å)	126,4
	b	126,4
	c	113,8
	α (°)	90,0
	β	90,0
	γ	120,0
Пространственная группа		P6 ₄
Диапазон разрешения (Å)	Общий	50 – 3,38
	Последняя оболочка	3,44 - 3,38
Количество уникальных отражений		14541
Завершённость (%)	(Общая/Последняя оболочка)	100/99,7
R _{merge} ¹	(Общий/Последняя оболочка)	31/152
Уточненная статистика	Разрешение (Å)	50 – 3,38
	R factor ² /Rfree (%)	27/35

 $^{^{1}}$ R $_{merge} = \Sigma_{j}(\mid_{h} - \langle I \rangle_{h}\mid) / \Sigma I_{h}$, где <I $_{h} >$ представляет собой среднюю интенсивность по симметрии эквивалентов

Определение и усовершенствование структуры

Кристаллическую структуру комплекса определяли путем молекулярного замещения PHASER с применением комплекса CH3C.35 Fc-AD TfR в качестве модели поиска. Указанную модель совершенствовали путем усовершенствования абсолютно твердого тела с последующим усовершенствованием с помощью REFMAC. Все кристаллографические расчеты выполняли с помощью набора программ ССР4. Встраивание модели комплекса в электронную плотность выполняли с помощью графической программы СООТ. Электронная плотность для комплексной молекулы была хорошей, особенно на поверхности контакта CH3C.35 Fc-TfF-AD. .

 $^{^{2}}$ R-factor = $\Sigma \mid F_{obs}$ - $F_{calc} \mid / \Sigma \mid F_{obs} \mid$

Взаимодействия поверхностей связывания

Поверхность связывания между CH3C.35 Fc и TfR-AD изображена на Фиг. 39A-39С. На Фиг. 39А продемонстрирован комплекс CH3C.35 Fc и TfR-AD при 3.4 Å. На Фиг. 39В продемонстрирован остаток W161 в CH3C.35 Fc, который стабилизирован остатками L209, L212, а также Y211 в TfR-AD. На Фиг. 39С продемонстрирован солевой мостик между остатком E160 в Fc CH3C.35 и остатком R208 в TfR-AD как центральное связывающее взаимодействие, которое может частично учитывать разницу в аффинности связывания Fc полипептида с TfR человека (Arg в положении 208) и TfR яванского макака (Gly в положении 208). На Фиг. 40A изображена наложенная структура между комплексом CH3C.35 Fc и TfR-AD и комплексом CH3C.18 Fc и TfR-AD (описанным в Примере 6), демонстрирующая отсутствие значительного конформационного изменения Fc каркаса между CH3C.35 и CH3C.18 ,На Фиг. 40B продемонстрировано увеличенное изображение наложенной структуры, проиллюстрированной на Фиг. 40А. Остатки 206-212 в TfR-AD комплекса CH3C.35 Fc/TfR-AD принимали различные конформации от остатков в TfR-AD комплекса CH3C.18 Fc / TfR-AD. Остаток R208 в TfR-AD оказался погружен в поверхность комплекса CH3C.18 Fc / TfR-AD, но оказался растворенным в комплексе CH3C.35 Fc / TfR-AD. Кроме того, остаток L209 в TfR-AD комплекса CH3C.35 Fc / TfR-AD оказался повернутым на 180 ° и связанным с поверхностью, но оказался вдали от поверхности в комплексе CH3C.18 Fc / TfR-AD.

Как продемонстрировано на Фиг. 41А-41В, взаимодействия наблюдались между:

- a. Thr159 из CH3C.35 и Gly207, Arg208, Lys188, и Leu209 из TfR-AD;
- b. Glu160 из CH3C.35 и Arg208 и Leu209 из TfR-AD;
- с. Ser162 из CH3C.35 и Arg208 и Leu209 из TfR-AD;
- d. Ser156 из CH3C.35 и Leu209 из TfR-AD;
- e. Trp161 из CH3C.35 и Leu209, Tyr211, и Leu212 из TfR-AD;
- f. Glu189 из CH3C.35 и Tyr211 и Leu212 из TfR-AD;
- g. Phe194 из CH3C.35 и Leu212, Asn215, и Val213 из TfR-AD;
- h. Tyr157 из CH3C.35 и Leu212, Asn215, и Ser199 из TfR-AD;
- i. Gln192 из CH3C.35 и Val213 и Lys158 из TfR-AD; а также
- j. Phe196 из CH3C.35 и Val213 и Leu212 из TfR-AD.

Кроме того, как описано в разделе "Картирование паратопов" Примера 2 и как продемонстрировано на Фиг. 41A и 41B, несколько положений вне регистра CH3C также участвуют в связывании с TfR.

Пример 8. Фармакокинетические/фармакодинамические исследования слитых полипептидов Fc-Fab, содержащих варианты CH3C, у обезьян яванских макак.

Этот пример описывает характеристику фармакокинетики/фармакодинамики (ФК/ФД) слияний Fc-Fab, содержащих вариантные полипептиды CH3C по данному изобретению, у обезьян яванских макак.

Дизайн исследования

Разовую дозу 30 мг/кг Ab122 (антитело анти-RSV в качестве контрольного IgG), Ab153 (антитело анти-BACE1), Ab210 (биспецифическое антитело анти-TfR/BACE1) или слитые полипептиды Fc-Fab, содержащие вариантные полипептиды CH3C, слитые с Fab-доменом Ab153 вводили внутривенно самцам обезьян яванского макака в возрасте 2-4 года для оценки ФК в плазме, Φ Д в плазме (Aβ40) и Φ Д в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) (Аβ40) в течение 29 дней (n = 4) / группу). Для установления исходного уровня у каждого животного отбирали пробы ЦСЖ и образцы крови за 7 дней до введения дозы. После введения дозы ЦСЖ собирали с помощью катетера IT-L через 12, 24, 48, 72 и 96 часов после введения дозы, а также в дни исследования 8, 11, 15, 18, 22, 25 и 29 для анализа Φ Д. Образцы крови отбирали для исследования Φ К в плазме и сыворотке через 0,25, 1, 6, 12, 24, 72 часа после введения дозы и в дни исследования 8, 11, 15, 18, 22, 25 и 29.

В Таблице 19 приведена схема дизайна исследования. "CH3C.35.21.16: Ab153" представляет собой одновалентный слитый полипептид Fc-Fab, содержащий клон CH3C.35.21.16, слитый с Fab-доменом Ab153. "CH3C.35.21: Ab153" представляет собой одновалентный слитый полипептид Fc-Fab, содержащий клон CH3C.35.21, слитый с Fab-доменом Ab153. "CH3C.35.9:Ab153" представляет собой двухвалентный слитый полипептид Fc-Fab, содержащий клон CH3C.35.21, слитый с Fab-доменом Ab153. "CH3C.35.8:Ab153" представляет собой двухвалентный слитый полипептид Fc-Fab, содержащий клон CH3C.35.20, слитый с Fab-доменом Ab153. "LALAPG" означает , что антитело или слитый полипептид Fc-Fab содержит мутации L7A, L8A и P102G в Fc последовательности (как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1). "LALAPG.YTE" означает , что слитый полипептид Fc-Fab содержит мутации L7A, L8A, P102G, M25Y, S27T и T29E в Fc последовательности (как пронумеровано со ссылкой на SEO ID NO: 1).

Таблица 19

Воздейс- твие	Изотип	Аффин- ность полно- размерно го TfR яванско- го макака (нМ)	Аффин- ность апикаль- ного TfR яванского макака (нМ)	Доза	N	Материал (мг)
Аb122 (контроль ний IgG)	huIgG1.LA LAPG			30	4	750
Ab153	huIgG1.LA LAPG			30	4	750
Ab210	huIgG1.LA LAPG	52	140	30	4	750
СН3С.35. 21.16:Ab1 53 (одновале нтный)	huIgG1.LA LAPG	1800	1900	30	4	750
СН3С.35. 21.16:Ab1 53 (одновале нтный)	huIgG1.LA LAPG.YT E	1800	1900	30	4	750
СН3С.35. 21:Ab153 (одновале нтный)	huIgG1.LA LAPG.YT E	2100	2200	30	4	750
СН3С.35. 9:Ab153 (двухвале нтный)	huIgG1.LA LAPG.YT E	700		30	4	750
СН3С.35. 8:Ab153 (двухвале нтный)	huIgG1.LA LAPG.YT E	1700		30	4	750

Способы

а. Анализ ФК IgG человека

Концентрации антитела или слитого полипептида Fc-Fab в сыворотке яванского макака количественно определяли с помощью сэндвич-ИФА, специфического для IgG человека. 384-луночный планшет MaxiSorp покрывали на ночь антителом, специфичным для Fc IgG человекаОбразцы плазмы разбавляли 1: 100, 1: 1000, 1: 10000 и 1: 100000 и добавляли на блокированные планшеты. Детектирующее антитело

представляло собой поликлональное антитело против человеческого IgG, абсорбированное у обезьян. Стандартные кривые получали для каждого антитела или слитого полипептида Fc-Fab отдельно (48-200000 пг/мл IgG), при этом анализ характеризовался нижним пределом количественного определения (LLOQ) в сыворотке 20 нг/мл.

а. Анализы ФД

Уровни растворимого ΑРРα/β в ЦСЖ яванского макака измеряли с помощью мультиплексного набора MesoScale Discovery (MSD) (MSD # K15120E). Два разных антитела специфически захватывали либо sAPPa, либо sAPPb, и затем оба аналита детектировали с помощью меченного SULFO-меткой мышиного моноклонального анти-АРР. Уровни Аβ40 в яванского макака измеряли с помощью антитела сверхчувствительного набора MSD (MSD # K151FTE). В этом анализе применяли huAβспецифическое антитело 6Е10 в качестве молекулы захвата и антитело анти-Аβ40, специфичное для С-конца пептида, в качестве молекулы детектирования. Оба анализа проводили в соответствии с инструкциями производителя. Вкратце, предварительно покрытые планшеты блокировали в течение 1 часа с помощью MSD Blocker A. Образцы ЦСЖ разбавляли 1:5 и добавляли в двух экземплярах на заблокированные планшеты с последующей инкубацией в течение ночи при 4 °C. Затем добавляли соответствующие детектирующие антитела и считывали планшеты на приборе Sector S600. Стандартные кривые, 0.92-3750 пг/мл $huA\beta40$ и 0.1-100 нг/мл для обоих $sAPP\alpha$ / β , аппроксимировали с помошью четырехпараметрической логистической регрессии. Анализы характеризовались LLOQ 73 пг/мл для Аβ40, и 0,5 нг/мл для sAPPα/β.

Результаты

Анализ промежуточной ФК в сыворотке после первых 7 дней после введения дозы показал ожидаемый клиренс, опосредованный мишенью, для Ab210 и CH3C.35.9: Ab153 из-за их связывания с TfR на периферии (Фиг. 42A). Антитела как Ab153, так и Ab210, а также CH3C.35.9: Ab153 приводили к значительному и устойчивому снижению уровня Aβ40 в плазме по сравнению с контрольным IgG (Фиг. 42B), подтверждая, что все три молекулы были способны ингибировать активность BACE *in vivo* в аналогичной степени. В ЦСЖ, как Ab210, так и CH3C.35.9: Ab153 смогли снизить уровень Аβ40 в ЦСЖ и соотношение sAPPβ / sAPPα до около 70% и около 75% соответственно по сравнению с контрольным IgG (Фиг. 43A и 43B). Ab153, антитело анти-BACE1, которое не связывает TfR, продемонстрировало минимальное влияние на уровень Аβ40 в ЦСЖ и соотношение sAPPβ / sAPPα по сравнению с контрольным IgG. Эти результаты демонстрируют, что связывание TfR с вариантным полипептидом CH3C (*например*, клоном CH3C.35.9)

усиливает проникновение в ЦНС слияния Fc-Fab, содержащего вариантный полипептид CH3C, слитый с Fab-доменом антитела анти-BACE1 (*например*, CH3C.35.9:Ab153), с целью ингибирования продукции Аβ40 в ЦСЖ и sAPPβ/sAPPα.

ФК в сыворотке, уровни Ав в плазме и уровни Ав в ЦСЖ также оценивали в течение четырех недель после однократного введения дозы. Подобно тому, что наблюдали мышей, результаты периферической ФК TfR-связывающих слияний Fc-Fab (CH3C.35.21.16: Ab153 LALAPG, CH3C.35.21.16: Ab153 LALAPGYTE и CH3C.35.21: Ab153 LALAPGYTE) в сыворотке демонстрировали более быстрый клиренс по сравнению с Ab122 и Ab153 вследствие связывания с TfR в периферических тканях (Фиг. 46A). Как Аb153, так и слияние CH3C: Ab153 снижали уровни Аβ в плазме более чем на около 50% по сравнению с контрольным IgG Ab122 (Фиг. 46В). Максимальный уровень Аβ был сходным между Ab153 и слиянием CH3C: Ab153, указывая на то, что Fc модификации не влияли на способность анти-BACE1 Fab ингибировать расщепление APP in vivo (Фиг. 46B). Продолжительность нахождения Аβ в плазме коррелировала с воздействием Ab153 и CH3C: Ab153 с течением времени. В ЦСЖ, все три слияния Fc-Fab были способны значительно снизить как Аβ40, так и соотношение sAPPβ/sAPPα до около 70% по сравнению с контрольным IgG Ab122, тогда как у животных, которым вводили Ab153, значительного снижения не наблюдалось (Фиг. 46С и 46D). Эти результаты демонстрируют, что связывание TfR с вариантным полипептидом CH3C (например, клоном СН3С.35.21.16 и СН3С.35.21) усиливает проникновение в ЦНС слияния Fc-Fab, содержащего вариантный полипептид СН3С, слитый с Fab-доменом антитела анти-BACE1 (например, CH3C.35.21.16:Ab153 и CH3C.35.21:Ab153), с целью ингибирования продукции Аβ40 в ЦСЖ и sAPPβ/sAPPα.

Из-за высокого уровня экспрессии TfR на незрелых эритроцитах клиническую патологию периферической крови оценивалив ходе всего исследования с целью оценки количества ретикулоцитов, уровня сывороточного железа и количества эритроцитов. Для оценки уровня железа в сыворотке использовали вариант способа с применением TPTZ [2,4,6-три-(2-пиридил)-5-триазина] в качестве хромогена. В кислой среде связанное с трансферрином железо диссоциировало на свободные ионы трехвалентного железа и апотрансферрин. Соляная кислота и аскорбат натрия восстанавливали ионы трехвалентного железа до состояния двухвалентного железа. Затем ионы двухвалентного железа вступали в реакцию с TPTZ с образованием комплекса синего цвета, который измеряли бихроматически при 600/800 нм. Увеличение оптической плотности было прямо пропорционально количеству присутствующего железа, связанного с трансферрином. Этот анализ выполняли на химическом анализаторе Beckman / Olympus AU640e.

Абсолютное количество ретикулоцитов и морфологию эритроцитов анализировали с помощью автоматизированной гематологической системы Siemens Advia 120. Слияния Fc-Fab не влияли на количество ретикулоцитов по сравнению с их количеством до введения дозы (Фиг. 47A). Кроме того, слияния Fc-Fab не влияли на уровень сывороточного железа, а также на количество эритроцитов (Фиг. 47B и 47C). Вместе эти данные указывают на то, что модифицированные TfR-связывающие слияния "Fc-полипептид-Fab" могут безопасно и эффективно увеличивать воздействие на мозг антител у приматов, отличных от человека, и вызывать устойчивый фармакодинамический ответ (то есть снижение уровня Аβ в ЦСЖ).

Пример 9. Фармакокинетический анализ CH3C.35, содержащего мутации M201L и N207S

Этот пример описывает, что мутации M201L и N207S являются совместимыми с CH3C.35.

Для того, чтобы оценить, являются ли мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO:1 (M428L/N434S в соответствии с нумерацией EU; также называемые мутациями "LS") совместимыми с модификациями TcR-связывающего Fc, мышам с нокином человеческого FcRn вводили Ab153_LALAPG, Ab153_LALA.LS, CH3C.35.21:Ab153_LALA.LS или Ab153_LALAPG.YTE в дозе 10 мг/кг. Оценка ФК в плазме в течение 14 дней продемонстрировала примерно такое же 2-кратное улучшение для Ab153_LALA.LS, CH3C.35.21: Ab153_LALA.LS и Ab153_LALAPG.YTE по сравнению с Ab153_LALAPG без каких-либо мутаций, повышающих стабильность в сыворотке (Фиг. 48A и 48B). Это указывает на то, что дополнительные Fc мутации для связывания TfR не влияют на способность LS мутаций улучшать период полужизни huIgG1 *in vivo*.

Пример 10. Одиночная аминокислотная замена СН3С.35.21

Этот пример описывает конструкцию библиотеки мутантов СН3С.35.21 с одиночной аминокислотной заменой.

Способы

Библиотека мутантов CH3C.35.21, каждый из которых содержит одиночную аминокислотную замену CH3C.35.21, конструировали с применением мутагенеза по Кункелю (Kunkel, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82(2):488-92, 1985). Для каждого положения в CH3C.35.21, W153, Y157, T159, E160, W161, S162, S163, K165, T186, K187, E188, E189, F194, S197 и S199, что пронумеровано в соответствии с SEQ ID NO: 1 (W380 Y384, T386, E387, W388, S389, S390, K392, T413, K414, E415, E416, F421, S424 и S426, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), были мутированы

NNK индивидуально кодон c применением вырожденных мутагенных олигонуклеотидов, Чтобы избежать получения исходного клона СН3С.35.21 в библиотеке, применяли матрицу одноцепочечной ДНК (ssДНК) Кункеля, кодирующую IgG1 Fc дикого типа. Два мутагенных олигонуклеотида (один с NNK и второй, кодирующий другую область СН3С.35.21) применяли в комбинации, так что, когда оба олигонуклкотида были включены, получали аминокислотную последовательность СН3С.35.21, но с кодоном NNK в желаемом положении библиотеки. Поскольку матрица представляет собой Fc олигонуклеотида дикого типа, одиночная вставка или отсутствие вставки олигонуклеотида не будет связывать TfR, поэтому эти конструкции легко исключались из любого анализа. Аналогичным образом, исключались стоп-кодоны, возникающие из положения NNK. Библиотеки были трансфицированы в дрожжи EBY100. Восемь колоний сиквенировали из каждой библиотеки, чтобы гарантировать, что наивная библиотека содержит желаемую рандомизацию положений.

Верхние около 10% популяции, связанной с апикальным доменом TfR с круговыми перестановками и измеренной с помощью дрожжевого дисплея и проточной цитометрии, собирали при концентрации TfR, обеспечивающей лучший диапазон для различения аффинностей. Последовательности получали для 12 клонов для каждого положения. Для библиотек с различными популяциями тот же эксперимент проводили с более четко определенными высокими, средними и низкими гейтами. Было 36 сиквенированных клонов для каждой собранной популяции. Кроме того, для сравнения связывания мутанта со связыванием соответствующего мутанта, имеющего остаток дикого типа в соответствующем аминокислотном положении, аминокислоту в том же положении реверсировали обратно в остаток IgG1 дикого типа с применением мутагенного олигонуклеотида с помощью аналогичных способов.

В Таблице 20 приведена библиотека мутантов СН3С.35.21.Каждый мутант содержал одиночную аминокислотную замену СН3С.35.21.Например, один мутант может содержать W380E, а аминокислоты в остальных положениях являются такими же, как в СН3С.35.21.Положения, приведенные в Таблице 20, пронумерованы в соответствии со схемой нумерации EU.

Таблица 20. Мутанты СН3С.35.21 с одиночной аминокислотной заменой

Положение	380	384	386	387	388	389	390	413	415	416	421	424	426
Fc дикого типа	Е	N	Q	P	Е	N	N	D	S	R	N	S	S
CH3C.35.21	W	Y	Т	Е	W	S	S	Т	Е	Е	F	S	S

Положение	380	384	386	387	388	389	390	413	415	416	421	424	426
Обнаружено, что остатки имеют аффинность в диапазоне: < 190 нМ до около ~500 нМ	E L S V W Y	Y F M P V W	T N V	E I P V	W	S A I T V	S N R T	T H S	S D G T P Q R	E R	F H K Y	S T W	S C P M W

Пример 11. Конструкция вариантов СН3С.18

5Этот пример описывает конструкцию библиотеки вариантов СН3С.18.

Отдельные клоны выделяли и выращивали в течение ночи в среде SG-CAA с добавлением 0,2% глюкозы в течение ночи для индукции поверхностной экспрессии вариантов CH3C.18.Для каждого клона, два миллиона клеток промывали три раза в PBS + 0,5% BSA при рН 7,4. Клетки окрашивали биотинилированной мишенью, 250 нМ TfR человека, 250 нМ TfR яванского макака или 250 нМ неродственного биотинилированного белка в течение 1 часа при 4 °C при встряхивании, затем дважды промывали тем же буфером. Клетки окрашивали нейтравидином-Alexafluor647 (AF647) в течение 30 минут при 4°C, затем дважды промывали снова. Экспрессию измеряли с применением антитела анти-с-тус с вторичным антикуриным Alexfluor488 (AF488) антителом. Клетки ресуспендировали, и измеряли среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) AF647 и AF488 на BD FACS CantoII. МFI рассчитывали для TfR-связывающей популяции для каждой популяции и наносили на график с TfR человека, TfR яванского макака или контрольным связыванием (Фиг. 49).

В Таблице 21 приведена библиотека вариантов СН3С.18.Каждая строка представляет вариант, который содержит указанные аминокислотные замены в каждом положении, а аминокислоты в остальных положениях являются такими же, как в Fc дикого типа. Положения, приведенные в Таблице 21, пронумерованы в соответствии со схемой нумерации EU.

386 384 387 389 390 391 413 Положение 416 P Y N N N D R **Fc** дикого типа 0 CH3C.4 (CH3C.18.1) V T P A L Y L Ε

V

S

Η

Y

S

Ε

T

Y

CH3C.2 (CH3C.18.2)

Таблица 21. Варианты СН3С.18

421

Ν

W

Y

Положение	384	386	387	389	390	391	413	416	421
CH3C.3 (CH3C.18.3)	Y	Т	Е	S	Q	Y	Е	D	Н
CH3C.1 (CH3C.18.4)	L	L	V	V	G	Y	A	Т	W
CH3C.18 (CH3C.18.1.18)	L	Н	V	A	V	Y	P	Т	W
CH3C.3.1-3 (CH3C.18.3.1-3)	L	Н	V	V	A	Т	P	T	W
CH3C.3.1-9 (CH3C.18.3.1-9)	L	P	V	V	Н	T	P	Т	W
CH3C.3.2-1 (CH3C.18.3.2-1)	L	Н	V	V	N	F	P	Т	W
CH3C.3.2-5 (CH3C.18.3.2-5)	L	Н	V	V	D	Q	P	Т	W
CH3C.3.2-19 (CH3C.18.3.2-19)	L	Н	V	V	N	Q	P	Т	W
CH3C.3.4-1 (CH3C.18.3.4-1)	W	F	V	S	Т	Т	P	N	F
CH3C.3.4-19 (CH3C.18.3.4-19)	W	Н	V	S	Т	Т	P	N	Y
CH3C.3.2-3 (CH3C.18.3.2-3)	L	Н	V	V	E	Q	P	T	W
CH3C.3.2-14 (CH3C.18.3.2-14)	L	Н	V	V	G	V	P	Т	W
CH3C.3.2-24 (CH3C.18.3.2-24)	L	Н	V	V	Н	Т	P	Т	W
CH3C.3.4-26 (CH3C.18.3.4-26)	W	Т	V	G	Т	Y	P	N	Y
CH3C.3.2-17 (CH3C.18.3.2-17)	L	Н	V	V	G	Т	P	Т	W

Аминокислотные замены для каждого клона, описанного в таблицах ((*например*, Таблица 9), диктуют аминокислотные замены в положениях регистра этого клона по аминокислотам, обнаруженным в последовательности, указанной в Перечне

последовательностей, в случае расхождений.

Следует понимать, что примеры и варианты осуществления изобретения, описанные в данном документе, предназначены только для иллюстративных целей и различные модификации или изменения в свете этого будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу применения данной заявки и объем прилагаемой формулы изобретения. Последовательности порядковых номеров доступа, приведенные в данном документе, включены в это описание посредством ссылки.

Таблица 1. Положения и мутации регистра СН2А2

Название	Группа посл.	47	48	49	56	57	58	59	60	61	62	63
последовательности												
Дикий тип	н/д	K	F	N	 Е	V	Н	N	A	K	T	K
CH2A2.1	1	Е	F	I	 D	V	R	Y	E	W	Q	L
CH2A2.2	1	G	F	V	 P	V	S	W	Е	W	Y	W
CH2A2.3	1	Q	F	D	 M	V	R	R	Е	W	Н	R
CH2A2.4	1	S	F	Е	 P	V	R	W	Е	W	Q	W
CH2A2.5	1	A	F	T	 P	V	R	W	Е	W	Q	N
CH2A2.6	1	N	F	D	 L	V	R	R	Е	W	Н	R
CH2A2.7	1	Q	F	V	 A	V	R	W	Е	W	I	R
CH2A2.8	1	Е	F	I	 Е	V	Α	W	Е	W	F	W
CH2A2.9	1	G	F	Α	 N	V	R	V	Е	W	Q	Y
CH2A2.10	1	G	F	V	 Е	V	R	R	Е	W	V	R
CH2A2.11	1	S	F	D	 L	V	R	R	Е	W	Q	R
CH2A2.12	1	Е	F	T	 D	V	R	Y	Е	W	Y	Y
CH2A2.13	1	Q	F	T	 D	V	R	Y	Е	W	V	R
CH2A2.14	1	Q	F	Y	 N	V	R	R	Е	W	Н	R
CH2A2.15	1	Y	F	D	 M	V	R	R	Е	W	Н	R
CH2A2.16	2	W	F	Е	 F	V	G	V	Α	Y	D	V

Таблица 2. Положения и мутации регистра СН2С

Название	Группа											
последовательности	посл.	39	40	41	42	43	44	 68	69	70	71	72
Дикий тип	н/д	V	S	Н	Е	D	P	 Q	Y	N	S	T
CH2C.1	1	P	Q	T	P	P	W	 Е	Y	Y	T	Y
CH2C.2	1	P	P	S	P	P	W	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.3	1	P	Q	T	P	P	W	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.4	1	F	R	G	P	P	W	 Е	Y	Y	Н	D
CH2C.5	1	P	Q	T	V	P	W	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.6	1	P	K	M	P	P	W	 Е	Y	Y	Т	Y
CH2C.7	1	P	P	V	P	P	W	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.8	1	P	A	F	P	P	W	 Е	Y	Y	Q	N
CH2C.9	1	Α	I	W	P	P	W	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.10	1	P	P	V	Α	P	W	 Е	Y	Y	S	S
CH2C.11	1	P	Q	M	P	P	Q	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.12	1	P	Q	T	A	P	W	 Е	Y	Y	T	Y
CH2C.13	1	P	Q	Т	P	P	Q	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.14	1	P	Q	Т	P	P	W	 Е	Y	Y	T	Y
CH2C.15	1	P	R	V	P	P	W	 Е	Y	Y	Q	N
CH2C.16	1	P	S	V	P	P	W	 Е	Y	Y	S	N
CH2C.17	2	M	L	W	P	V	P	 V	Y	Н	R	P
CH2C.18	2	M	L	W	P	V	P	 T	Y	Н	N	P
CH2C.19	2	M	Е	W	P	V	T	 T	Y	Н	Н	P
CH2C.20	2	M	L	W	P	V	P	 T	Y	Н	Н	P
CH2C.21	3	D	D	L	T	F	Q	 V	Y	V	T	P
CH2C.22	3	D	D	L	T	F	Q	 L	Y	V	T	P
CH2C.23	4	A	Y	G	D	P	Е	 W	Y	D	V	P

<u>Таблица 3. Положения и мутации регистра CH2D</u>

Название последовательности	Группа посл.	41	42	43	44	45	 65	66	67	68	69	70	71	72	73
Дикий тип	н/д	Н	Е	D	P	Е	 R	Е	Е	Q	Y	N	S	Т	Y
CH2D.1	1	V	P	P	R	M	 L	T	S	Q	Н	N	S	T	V
CH2D.2	1	V	P	P	W	M	 L	T	S	Q	Н	N	S	T	V
CH2D.3	2	D	M	W	Е	Y	 W	V	K	Q	L	N	S	T	W
CH2D.4	2	D	D	W	T	W	 W	Ι	A	Q	P	N	S	T	W
CH2D.5	2	D	D	W	Е	W	 W	K	L	Q	L	N	S	T	W

Таблица 4. Положения и мутации регистра СН2Е3

Название																
последовате-	Группа															
льности	посл.	45	46	47	48	49	 95	96	97	98	99	100	101	102	103	104
Дикий тип	н/д	Е	V	K	F	N	 K	V	S	N	K	A	L	P	A	P
CH2E3.1	1	W	V	W	F	Y	 S	V	V	N	I	A	L	W	W	S
CH2E3.2	2	V	V	G	F	R	 R	V	S	N	S	A	L	T	W	K
CH2E3.3	2	V	V	G	F	R	 R	V	S	N	S	A	L	S	W	R
CH2E3.4	2	I	V	G	F	R	 R	V	S	N	S	A	L	R	W	R
CH2E3.5	3	A	V	G	F	Е	 Q	V	F	N	W	A	L	D	W	V

<u>Таблица 5. Положения и мутации регистра СН3В</u>

Название	Группа									
последовательности	посл.	118	119	120	121	122	 210	211	212	213
Дикий тип	н/д	Е	P	Q	V	Y	 T	Q	K	S
CH3B. 1	1	F	D	Y	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 2	1	F	D	M	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 3	1	F	Е	Y	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 4	1	F	Е	M	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 5	1	F	Е	L	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 6	1	F	Е	I	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 7	1	F	D	I	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 8	1	F	D	Y	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 9	1	F	G	M	V	T	 G	F	Н	D
CH3B. 10	1	F	A	D	V	T	 G	F	Y	D
CH3B. 11	1	F	G	L	V	T	 G	F	Н	D
CH3B.12	1	F	D	Y	V	T	 G	F	S	D
CH3B. 13	1	I	D	Y	V	T	 G	F	S	D
CH3B. 14	1	F	K	D	V	T	 G	F	F	D
CH3B. 15	1	F	D	L	V	Т	 G	F	Y	D
CH3B. 16	1	I	D	Y	V	T	 G	F	S	D
CH3B. 17	1	F	Е	L	V	A	 G	F	Н	D

<u>Таблица 6. Положения и мутации регистра СН3С</u>

Название																		
последовательност	Групп	15	15	15	16	16	16	16	16	 18	18	18	18	19	19	19	19	19
И	а посл.	7	8	9	0	1	2	3	4	6	7	8	9	0	1	2	3	4
Дикий тип	н/д	N	G	Q	P	Е	N	N	Y	 D	K	S	R	W	Q	Q	G	N
CH3C.1		L	G	L	V	W	V	G	Y	 A	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.2		Y	G	T	V	W	S	Н	Y	 S	K	S	Е	W	Q	Q	G	Y
CH3C.3		Y	G	T	Е	W	S	Q	Y	 Е	K	S	D	W	Q	Q	G	Н
CH3C.4		V	G	T	P	W	A	L	Y	 L	K	S	Ε	W	Q	Q	G	W
CH3C.17	2	Y	G	T	V	W	S	K	Y	 S	K	S	Е	W	Q	Q	G	F
CH3C.18	1	L	G	Н	V	W	A	V	Y	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.21	1	L	G	L	V	W	V	G	Y	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.25	1	M	G	Н	V	W	V	G	Y	 D	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.34	1	L	G	L	V	W	V	F	S	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.35	2	Y	G	T	Е	W	S	S	Y	 T	K	S	Е	W	Q	Q	G	F
CH3C.44	2	Y	G	T	Е	W	S	N	Y	 S	K	S	Е	W	Q	Q	G	F
CH3C.51	1/2	L	G	Н	V	W	V	G	Y	 S	K	S	Е	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.1-3	1	L	G	Н	V	W	V	A	T	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.1-9	1	L	G	P	V	W	V	Н	T	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.2-5	1	L	G	Н	V	W	V	D	Q	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.2-19	1	L	G	Н	V	W	V	N	Q	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.2-1	1	L	G	Н	V	W	V	N	F	 P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.4-1		W	G	F	V	W	S	Т	Y	P	K	S	N	W	Q	Q	G	F
CH3C.3.4-19		W	G	Н	V	W	S	Т	Y	P	K	S	N	W	Q	Q	G	Y
CH3C.3.2-3		L	G	Н	V	W	V	Е	Q	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.2-14		L	G	Н	V	W	V	G	V	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.2-24		L	G	Н	V	W	V	Н	Т	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
CH3C.3.4-26		W	G	Т	V	W	G	Т	Y	P	K	S	N	W	Q	Q	G	Y
CH3C.3.2-17		L	G	Н	V	W	V	G	Т	P	K	S	Т	W	Q	Q	G	W

<u>Таблица 9. Исследование приемлемого разнообразия в регистре и положениях горячих точек для CH3C.35.21</u>

Agriculti min Ma V E W E W E S N G Q P E W S N S N S N S N W Q Q Q S N V F CHACASS.20. 1			2)	~	_	10			~		Ì						H3 -				~					~	-		
CH3C.35.20. 1		[5]	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	184	185	18(187	188	186	190	191	192	193	192	195	196
THE CH3C.35.20. 2 CH3C.35.20. 3 CH3C.35.20. 3 CH3C.35.20. 4 CH3C.35.20. 5 CH3C.35.20. 6 CH3C.35.20. 7 CH	Дикий тип	A	V	E	W	Е	S	N	G	Q	P	Е	N	N	Y	K	Т	V	D	K	S	R	w	Q	Q	G	N	V	F
THE CH3C.35.20. 2 CH3C.35.20. 3 CH3C.35.20. 4 CH3C.35.20. 5 CH3C.35.20. 5 CH3C.35.20. 5 CH3C.35.20. 6 CH3C.35.20. 5 CH3C.35.20. 6 CH3C.35.20. 7 CH3C.35.20.	CH3C.35.20.																												
2	1	•				·		F		Т	Е	W	S	S	•	•	•		Т	•	Е	Е					F	•	•
2	CH3C.35.20.																												
3		•	٠		٠	•	•	Y	٠	Т	Е	W	A	S	•	٠	٠	•	Т	•	Е	Е	٠	٠	٠		F	•	•
3																													
Hand Characters of the control of th	3							Y		T	Е	W	V	S		•			T	-	Е	Е			•		F		
4 Y T E W S S E E F F CH3C.35.20. S F T E W A S T E E F T F T CH3C.35.20. G F T E W V S F T E E F F F T CH3C.35.21. A W Y T E W A S F T E E F F F T CH3C.35.21. A W Y T E W V S F T E E F T F T CH3C.35.21. A W Y T E W V S F T E E F T F T CH3C.35.21. A W Y T E W V S F T E E F T F <td>CH3C.35.20.</td> <td></td>	CH3C.35.20.																												
S	4							Y		Т	Е	W	S	S		•	•		S	•	Е	Е			•		F		•
S F T E W A S T E E F F T E W A S T E E E F F T E E T E E T E E T E E	CH3C.35.20.																												
6	5	•				·		F		Т	Е	W	Α	S	•	•	•		Т	•	Е	Е					F	•	•
6	CH3C.35.20.																												
A 1	6	•			•			F	•	Т	Е	W	V	S		٠	•		Т	•	Е	Е	•	•	•		F		•
A.1	CH3C.35.21.																												
A.2	a.1		,	W				F	•	T	Е	W	S	S		•	•		Т	•	Е	Е			•		F		•
A.2	CH3C.35.21.																												
A.3	a.2			W				Y	•	T	Е	W	Α	S		•	•		T	•	Е	Е			•		F		•
A.3 W Y T E W V S T E E F F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E T T E E T T E E	CH3C.35.21.																												
A.4	a.3			W	•			Y		Т	Е	W	V	S		•	•		Т	•	Е	Е					F		•
A.4 W Y T E W S S E E F F CH3C.35.21. A.5 W Y T E W A S Y T E E Y Y F Y F Y E W A S Y Y T E E Y Y Y T E W A X Y Y T E W A X Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E E Y Y T E Y Y T T E Y Y T T E T Y T T T T T T T T	CH3C.35.21.																												
A.5	a.4	•		W				Y		Т	Е	W	s	S		•	•		S	•	Е	Е					F		
A.5 W F T E W A S T E E F F F T E W A S T E E F F T E W A S T E E T E E T E E T E E	CH3C.35.21.																												
a.6 .	a.5	•		w				F		Т	Е	w	Α	S	•		٠		Т	•	Е	Е					F		
A.6 W F T E W V S T E E F F T E W S T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E F T E E T T E E T T E E	CH3C.35.21.																												
1	a.6	•		W				F		Т	Е	W	V	S	•	•	•		Т	•	Е	Е		•	•		F	•	
T E E E F F T E W S T E W S T E E E F F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E F T E E E E	CH3C.35.23.																												
2	1	•			•			F		T	Е	W	S	•	•	•	•	•	T	•	Е	Е		•	•		F	•	
2	CH3C.35.23.																												
3	2							Y		T	Е	W	A				٠		T	•	Е	Е	•				F		•
3	CH3C.35.23.																												Н
4	3							Y		T	E	W	V				•		T	•	Е	Е					F		•
4	CH3C.35.23.																												
5		•		Ľ.	·		Ŀ	Y		Т	Е	W	S		•	•			S		Е	Е	L.		·	Ľ.	F	•	
5	CH3C.35.23.											_																	
CH3C.35.23	5		Ĺ	Ĺ.	L.	Ĺ	Ŀ	F	L.	T	Е	W	A						T		Е	Е	Ĺ	Ĺ		L.	F		
	CH3C.35.23.							F		T	Е	W	V						T		Е	Е					F		

,	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196
Дикий тип	A	V	Е	W	Е	S	N	G	Q	P	Е	N	N	Y	K	Т	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F
6																												
CH3C.35.24.																												
1	٠	•	W				F	٠	Т	Е	W	S	•	•		٠		Т		Е	Е					F	•	٠
CH3C.35.24.																												
2	•	•	W				Y	•	Т	Е	W	A		•	•	٠		Т		Е	Е					F	•	
CH3C.35.24.																												
3	•	•	W				Y	•	Т	Е	W	V	•	•	•	٠		T		Е	Е		•			F	•	•
CH3C.35.24.																												
4	٠	•	w	•	•		Y	٠	Т	Е	W	S	•	•	•	٠		S	•	Е	Е		•	•		F	•	٠
CH3C.35.24.																												
5	•	•	W				F	•	T	Е	W	A	•	•	•	٠		Т	•	Е	Е		٠	•	•	F	•	•
CH3C.35.24.																												
6	٠	•	W				F	•	T	Е	W	V	•	•	•	•		Т	•	Е	Е		٠		•	F	•	•
CH3C.35.21.																												
17.1	٠	•	L				F	•	Т	Е	W	S	S	•	•	•		T	•	Е	Е		•		•	F	•	•
CH3C.35.21.																												
17.2	•	•	L		•	•	Y	•	Т	Е	W	Α	S	•	•	•		Т	•	Е	Е		•	•		F	•	•
CH3C.35.21.																												
17.3	•	•	L	ľ	•		Y	•	T	Е	W	V	S	•	·	·		T	•	Е	Е		•			F	•	•
CH3C.35.21.																												
17.4	•	•	L	ľ	•		Y	•	T	Е	W	S	S	•	•			S	•	Е	Е	•				F	•	•
CH3C.35.21.																												
17.5	•	•	L		•		F	•	T	Е	W	A	S	•				T	•	Е	Е		•			F	•	•
CH3C.35.21.																												
17.6	•	•	L		•		F	•	Т	Е	W	V	S	•	•	•		Т	•	Е	Е		•			F	•	•
CH3C.35.20							Y		T	Е	W	S	S					T		Е	Е					F		
CH3C.35.21			W				Y		T	Е	W	S	S					T		Е	Е					F		
CH3C.35.22			W				Y		Т	Е	W	S						Т			Е					F		
CH3C.35.23							Y		Т	Е	W	S						Т		Е	Е					F		
CH3C.35.24			W				Y		Т	Е	W	S						Т		Е	Е					F		
CH3C.35.21.																												
17	٠	•	L		•		Y	•	Т	Е	W	s	S	•	٠	٠		Т	•	Е	Е		٠		•	F	•	•
CH3C.35.N3																												
90	•	•					Y	•	Т	Е	W	S	•	•	•			Т		•	Е		٠			F	•	•
CH3C.35.20.													S							Е								
1.1							F		Т	Е	W	S) 					S		E	Е					F		
CH3C.35.23.																												
2.1							Y		Т	Е	W	A						S			Е					F		

	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196
Дикий тип	A	V	Е	W	Е	S	N	G	Q	P	Е	N	N	Y	K	Т	V	D	K	S	R	w	Q	Q	G	N	V	F
CH3C.35.23.																				_								
1.1							F		Т	Е	W	S						S		Е	Е					F		
CH3C.35.S4																												
13							Y		Т	Е	W	S	S					S			Е					F		
CH3C.35.23.																				_								
3.1							Y		Т	Е	W	V						S		Е	Е					F		
CH3C.35.N3																												
90.1							Y		Т	Е	W	S						S			Е					F		
CH3C.35.23.																				Б								
6.1							F		Т	Е	W	V						S		Е	Е					F		

Перечень последовательностей без соблюдения формальных требований

SEQ ID	Пословорета на наста	Описание
NO:	Последовательность	Описание
1	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Fc- последовательность человека дикого типа, включающая аминокислоты 1-3 (PCP) из шарнирной области
2	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA K	Последовательность СН2-домена, включющая три аминокислоты (РСР) на N-конце из шарнирной области
3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность СН3-домена
4	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGLVWVGYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVAK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.1 (Клон СН3С.18.4)
5	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTVWSHYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGYVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.2 (Клон СН3С.18.2)
6	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSQYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVEKS DWQQGHVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.3 (Клон СН3С.18.3)
7	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESVGTPWALYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVLKS EWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.4 (Клон СН3С.18.1)
8	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTVWSKYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.17

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
9	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.18 (Клон СН3С.18.1. 18)
10	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGLVWVGYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.21
11	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESMGHVWVGYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.25
12	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGLVWVFSKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKS TWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.34
13	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35
14	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.44
15	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVGYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.51
16	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVATKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.3.1-3 (Клон СН3С.18.3.1- 3)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
17	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGPVWVHTKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKS TWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.3.1-9 (Клон СН3С.18.3.1- 9)
18	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVDQKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.3.2-5 (Клон СН3С.18.3.2- 5)
19	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVNQKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.3.2-19 (Клон СН3С.18.3.2- 19)
20	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVNFKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.3.2-1 (Клон СН3С.18.3.2- 1)
21	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.E153W (CH3C.35.13)
22	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWAVYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.18.К165Q (СН3С.35.14)
23	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESLGHVWAVYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.E153W. K165Q (CH3C.35.15)
24	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.E153W (CH3C.35.19)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
25	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.S188E (CH3C.35.20)
26	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.E153W. S188E (CH3C.35.21)
27	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.N163
28	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSSYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.K165Q
29	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.N163. K165Q
30	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 1
31	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDMVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 2
32	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFEYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 3

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
33	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFEMVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 4
34	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFELVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 5
35	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFEIVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 6
36	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDIVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 7
37	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 8
38	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFGMVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 9
39	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFADVTILPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFYDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 10
40	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFGLVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 11

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
41	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFSDLSLSPGK	Клон СНЗВ.12
42	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRIDYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFSDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 13
43	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFKDVTILPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFFDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 14
44	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDLVTILPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFYDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 15
45	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRIDYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFSDLSLSPGK	Клон СНЗВ. 16
46	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFELVATLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFHDLSLSPGK	Клон СН3В. 17
47	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVEFIWYVDGVDVRYEWQLPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.1
48	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVGFVWYVDGVPVSWEWYWPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.2

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
49	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFDWYVDGVMVRREWHRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клорн СН2А2.3
50	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVSFEWYVDGVPVRWEWQWPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.4
51	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVAFTWYVDGVPVRWEWQNPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.5
52	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVNFDWYVDGVLVRREWHRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.6
53	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFVWYVDGVAVRWEWIRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.7
54	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVEFIWYVDGVEVAWEWFWPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.8
55	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVGFAWYVDGVNVRVEWQYPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.9
56	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVGFVWYVDGVEVRREWVRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.10

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
57	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVSFDWYVDGVLVRREWQRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.11
58	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVEFTWYVDGVDVRYEWYYPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.12
59	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFTWYVDGVDVRYEWVRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.13
60	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFYWYVDGVNVRREWHRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.14
61	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVYFDWYVDGVMVRREWHRPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.15
62	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVWFEWYVDGVFVGVAYDVPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2А2.16
63	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QTPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYTYYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.1
64	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP PSPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.2

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
65	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QTPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.3
66	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDF RGPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYHDYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.4
67	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QTVPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.5
68	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP KMPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYTYYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.6
69	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP PVPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.7
70	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP AFPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYQNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.8
71	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDA IWPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.9
72	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP PVAPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSSYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.10

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
73	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QMPPQEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.11
74	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QTAPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYTYYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.12
75	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QTPPQEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.13
76	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP QTPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYTYYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.14
77	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP RVPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYQNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.15
78	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDP SVPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.16
79	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDM LWPVPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEVYHRPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.17
80	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDM LWPVPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREETYHNPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.18

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
81	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDM EWPVTEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREETYHNPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.19
82	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDM LWPVPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREETYHHPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.20
83	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDD DLTFQEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEVYVTPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.21
84	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDD DLTFQEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREELYVTPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.22
85	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDA YGDPEEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEWYDVPYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2С.23
86	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SVPPRMVKFNWYVDGVEVHNAKTKSLTSQHNSTVRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.1
87	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SVPPWMVKFNWYVDGVEVHNAKTKSLTSQHNSTVRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.2
88	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SDMWEYVKFNWYVDGVEVHNAKTKPWVKQLNSTW RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.3

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
89	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SDDWTWVKFNWYVDGVEVHNAKTKPWIAQPNSTWR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.4
90	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SDDWEWVKFNWYVDGVEVHNAKTKPWKLQLNSTWR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.5
91	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPWVWFYWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCSVVNIALWWSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2Е3.1
92	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPVVGFRWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCRVSNSALTWKIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2Е3.2
93	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPVVGFRWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCRVSNSALSWRIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2Е3.3
94	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPIVGFRWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCRVSNSALRWRIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2Е3.4
95	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPAVGFEWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVFNWALDWVIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН2Е3.5
96	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVXFXWYVDGVXVXXXXXXPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Библиотека СН2А2 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
97	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDX XXXXXEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEXYXXXYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Библиотека СН2С (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
98	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SXXXXXVKFNWYVDGVEVHNAKTKPXXXQXNSTXR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Библиотека CH2D (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
99	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPXVXFXWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCXVXNXALXXXIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Библиотека СН2Е3 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
100	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRXXXVXTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYXXXXLSLSPGK	Библиотека СН3В (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
101	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYVTTLPPXXXEXXXXQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFSDLSLSPGK	Библиотека СН3В- участок 1 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
102	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYXTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALXXHXGFSDLSLSPGK	Библиотека СН3В- участок 2 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
103	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYVTTLXPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFSDXSLXXXX	Библиотека СН3В- участок 3 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
104	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGXPXFDYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVXGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSXGXFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFSDLSLSPGK	Библиотека СН3В- участок 4 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
105	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPRFDYVTTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWXSXXQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQXXXFSCSVMHEALHNHYGFSDLSLSPGK	Библиотека СН3В- участок 5 (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
106	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESXGXXXXXYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVXK SXWQQGXVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Библиотека СН3С (X обозначает рандомизированное аминокислотное положение)
107	NSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH ANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTP GFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNME GDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVS	Апикальный домен TfR человека
108	NSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYT PGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNM EGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVS	Апикальный домен TfR яванского макака
109	SSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTC RMVTSESKNVKLTVSNDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVE NPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPV NGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFP IVNAELSGP	Апикальный домен TfR человека с усеченной петлей, отображенный на фаге
110	SSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTC KMVTSENKSVKLTVSNDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVE NPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPV NGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFP IVKADLSGP	Апикальный домен TfR яванского макака с усеченной петлей, отображенный на фаге
111	VPPXM	Консервативная последовательность СН2D
112	SLTS	Консервативная последовательность СН2D
113	WESXGXXXXYK	Первая часть регистра СН3С
114	TVXKSXWQQGXV	Вторая часть регистра СН3С
115	YGTEW	Консервативная последовательность СН3С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
116	LGLVWVG	Модифицированная последовательность
117	YGTVWSH	связывания СН3С Модифицированная последовательность связывания СН3С
118	YGTEWSQ	Модифицированная последовательность связывания СН3С
119	VGTPWAL	Модифицированная последовательность связывания СН3С
120	YGTVWSK	Модифицированная последовательность связывания СН3С
121	LGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СН3С
122	MGHVWVG	Модифицированная последовательность связывания СН3С
123	LGLVGVF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
124	YGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
125	YGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
126	LGHVWVG	Модифицированная последовательность связывания СН3С
127	LGHVWVA	Модифицированная последовательность связывания СН3С
128	LGPVWVH	Модифицированная последовательность связывания СН3С
129	LGHVWVD	Модифицированная последовательность связывания СН3С
130	LGHVWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
131	AKSTWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СН3С
132	SKSEWQQGY	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
133	EKSDWQQGH	Модифицированная последовательность связывания СН3С
134	LKSEWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
135	SKSEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
136	PKSTWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СН3С
137	DKSTWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СН3С
138	TKSEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
139	SKSEWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СН3С
140	FDYVT	Модифицированная последовательность связывания СНЗВ
141	FDMVT	Модифицированная последовательность связывания СНЗВ
142	FEYVT	Модифицированная последовательность связывания СНЗВ
143	FEMVT	Модифицированная последовательность связывания СНЗВ
144	FELVT	Модифицированная последовательность связывания СНЗВ
145	FEIVT	Модифицированная последовательность связывания СНЗВ

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
		Модифицированная
146	FDIVT	последовательность
		связывания СН3В
		Модифицированная
147	FGMVT	последовательность
148	FADVT	
		связывания СНЗВ
		Модифицированная
149	FGLVT	
150	IDYVT	* *
		последовательность связывания СНЗВ Модифицированная последовательность связывания СНЗВ
		последовательность связывания СНЗВ Модифицированная последовательность
151	FKDVT	
152	FDLVT	
153	FELVA	
154	GHFD	
		связывания СНЗВ
155	GFYD	
156	GFSD	
157	GFFD	последовательность
		связывания СНЗВ
		Модифицированная
158	EFI	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
159	GFV	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
160	QFD	последовательность
		связывания СН2А2

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
		Модифицированная
161	SFE	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
162	AFT	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
163	NFD	последовательность
		Модифицированная последовательность связывания СН2А2 Модифицированная
		Модифицированная
164	QFV	последовательность
		связывания СН2А2 Модифицированная последовательность связывания СН2А2
		Модифицированная
165	GFA	Модифицированная последовательность связывания СН2А2
		Модифицированная последовательность связывания СН2А2 Модифицированная последовательность
166	SFD	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
167	EFT	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
168	QFT	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
169	QFY	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
170	YFD	
		Модифицированная
171	WFE	
		Модифицированная
172	DVRYEWQL	
		связывания СН2А2
		Модифицированная
173	PVSWEWYW	последовательность
		связывания СН2А2
174		Модифицированная
	MVRREWHR	последовательность связывания CH2A2
		Модифицированная
175	PVRWEWQW	последовательность
		связывания СН2А2

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
		Модифицированная
176	PVRWEWQN	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
177	LVRREWHR	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
178	AVRWEWIR	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
179	EVAWEWFW	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
180	NVRVEWQY	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
181	EVRREWVR	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
182	LVRREWQR	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
183	DVRYEWYY	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
184	DVRYEWVR	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
185	NVRREWHR	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
186	FVGVAYDV	последовательность
		связывания СН2А2
		Модифицированная
187	PQTPPW	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
188	PPSPPW	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
189	FRGPPW	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
190	PQTVPW	последовательность
		связывания СН2С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
191	PKMPPW	Модифицированная последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
192	PPVPPW	последовательность связывания СН2С
		Модифицированная
193	PAFPPW	последовательность связывания СН2С
		Модифицированная
194	AIWPPW	последовательность
		связывания СН2С
105	DDV/A DVV	Модифицированная
195	PPVAPW	последовательность связывания СН2С
		Модифицированная
196	PQMPPQ	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
197	PQTAPW	последовательность
		связывания СН2С
198	DOTEDO	Модифицированная
198	PQTPPQ	последовательность связывания СН2С
		Модифицированная
199	PRVPPW	последовательность
100		связывания СН2С
		Модифицированная
200	PSVPPW	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
201	MLWPVP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
202	MEWPVT	последовательность
		связывания СН2С
202	DDI TEO	Модифицированная
203	DDLTFQ	последовательность связывания СН2С
204	AYGDPE	Модифицированная последовательность
201		связывания СН2С
		Модифицированная
205	EYYTY	последовательность
_00		связывания СН2С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
		Модифицированная
206	EYYSN	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
207	EYYHD	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
208	EYYQN	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
209	EYYSS	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
210	VYHRP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
211	TYHNP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
212	TYHHP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
213	VYVTP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
214	LYVTP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
215	WYDVP	последовательность
		связывания СН2С
		Модифицированная
216	VPPRM	последовательность
		связывания CH2D
		Модифицированная
217	VPPWM	последовательность
		связывания CH2D
		Модифицированная
218	DMWEY	последовательность
		связывания CH2D
		Модифицированная
219	DDWTW	последовательность
		связывания CH2D
		Модифицированная
220	DDWEW	последовательность
		связывания CH2D

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
221	LTSQHNSTV	Модифицированная последовательность связывания СН2D
222	WVKQLNSTW	Модифицированная последовательность связывания CH2D
223	WIAQPNSTW	Модифицированная последовательность связывания СН2D
224	WKLQLNSTW	Модифицированная последовательность связывания CH2D
225	WVWFY	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
226	VVGFR	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
227	IVGFR	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
228	AVGFE	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
229	SVVNIALWWS	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
230	RVSNSALTWK	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
231	RVSNSALSWR	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
232	RVSNSALRWR	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
233	QVFNWALDWV	Модифицированная последовательность связывания СН2Е3
234	EPKSCDKTHTCPPCP	Аминокислотная последовательность шарнира IgG1 человека

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
235	MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVE MKLAVDEENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVIV FFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGE DFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTGTIKLLNENSY VPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFVK IQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAA TVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITF AEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAH LGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSN VLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGAA KSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSA GDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTS NFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWA SKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGT TMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVE LNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLY SARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMR VEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLENLKL RKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVW DIDNEF	Белок 1 трансферринового рецептора человека (TFR1)
236	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.19
237	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20
238	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21
239	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.22

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
240	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23
241	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24
242	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант СН3С.18
243	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант СН3С.18
244	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVYWESLGHVWAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант СН3С.18
245	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWAVYQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант СН3С.18
246	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWAVYFTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант СН3С.18
247	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWAVYHTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант СН3С.18

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
248	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.1
249	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.2
250	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTRE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.3
251	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.4
252	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTRE EWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.5
253	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.6
254	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTRE EWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.7
255	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTRE EWQQGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.8

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
256	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTRE EWQQGFVFECWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.9
257	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTRE EWQQGFVFKCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.10
258	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTPE EWQQGFVFKCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.11
259	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTR EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.12
260	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTG EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.13
261	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTR EEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.14
262	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTG EEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.15
263	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTR EEWQQGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.16

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
264	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17
265	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.18
266	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1
267	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20. 2
268	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20. 3
269	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20. 4
270	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20. 5
271	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20. 6

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
272	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С35. 21. а. 1
273	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.а.2
274	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.а.3
275	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.a.4
276	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESFGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.а.5
277	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESFGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.а.6
278	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1
279	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
280	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3
281	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4
282	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.5
283	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.6
284	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24.1
285	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24.2
286	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24.3
287	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24.4

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
288	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESFGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24.5
289	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESFGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.24.6
290	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.1
291	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2
292	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.3
293	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.4
294	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESFGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.5
295	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESFGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.6

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
296	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKS EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.N390
297	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESLGHVWVNQKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.16
298	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVNQQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.17
299	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESLGHVWVNQQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.18
300	MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVE MKLGVDEEENTDNNTKANGTKPKRCGGNICYGTIAVII FFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEE DFPAAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLY VPREAGSQKDENLALYIENQFREFKLSKVWRDQHFVKI QVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAAT VTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFA EKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHL GTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAE KLFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSN VLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGA AKSSVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWS AGDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGT SNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNW ASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYL GTTMDTYKELVERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTH DTELNLDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQ WLYSARGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDR VMRVEYYFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLSALLES LKLRQNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGD VWDIDNEF	TfR яванского макака

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
301	MGWSCIILFLVATATGAYAGTSSGLPNIPVQTISRAAAE KLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSN DSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTG KLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKV ANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSASHHHHHH	His-меченный апикальный домен TfR с перестановками
302	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHV WAVYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Экспрессированная последовательность CH3C.18 Fc
303	EWESFGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
304	EWESYGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
305	EWESYGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
306	EWESYGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
307	EWESFGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
308	EWESFGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
309	WWESFGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
310	WWESYGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
311	WWESYGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
312	WWESYGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
313	WWESFGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СН3С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
314	WWESFGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
315	EWESFGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
316	EWESYGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
317	EWESYGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
318	EWESYGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
319	EWESFGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
320	EWESFGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
321	WWESFGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
322	WWESYGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
323	WWESYGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
324	WWESYGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
325	WWESFGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
326	WWESFGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
327	LWESFGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
328	LWESYGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
329	LWESYGTEWVS	Модифицированная последовательность
330	LWESYGTEWSS	связывания СН3С Модифицированная последовательность связывания СН3С
331	LWESFGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
332	LWESFGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
333	WWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СН3С
334	EWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СН3С
335	LWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СН3С
336	YWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СН3С
337	EWESLGLVWVF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
338	WWESLGHVWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
339	EWESLGHVWVN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
340	TKEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
341	SKEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
342	PKTSWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СН3С
343	TREEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
344	TPEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
345	TGEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
346	TVXKXXWQQGXV	Вторая часть регистра СН3С
347	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.8 (Клон СН3С.35.20 с мутациями YTE и LALAPG)
348	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.9 (Клон СН3С.35.21 с мутациями YTE и LALAPG)
349	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутацией "выступа"
350	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа" и LALA
351	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа" и LALAPG
352	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа" и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
353	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа", LALA и YTE
354	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
355	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия"
356	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия" и LALA
357	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия" и LALAPG
358	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия" и YTE
359	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
360	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
361	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутацией "выступа"
362	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа" и LALA
363	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа" и LALAPG
364	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа" и YTE
365	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа", LALA и YTE
366	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
367	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия"
368	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия" и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
369	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия" и LALAPG
370	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия" и YTE
371	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
372	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE
373	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутацией "выступа"
374	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа" и LALA
375	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа" и LALAPG
376	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа" и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
377	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа", LALA и YTE
378	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
379	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия"
380	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия" и LALA
381	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия" и LALAPG
382	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия" и YTE
383	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
384	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE

SEQ		
ID NO:	Последовательность	Описание
NO:	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
385	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутацией "выступа"
386	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа" и LALA
387	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа" и LALAPG
388	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа" и YTE
389	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа", LALA и YTE
390	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
391	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия"
392	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия" и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
393	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия" и LALAPG
394	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия" и YTE
395	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
396	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE
397	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутацией "выступа"
398	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа" и LALA
399	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа" и LALAPG
400	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа" и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
401	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа", LALA и YTE
402	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
403	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия"
404	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" и LALA
405	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" и LALAPG
406	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия" и YTE
407	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
408	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
409	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутацией "выступа"
410	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа" и LALA
411	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа" и LALAPG
412	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа" и YTE
413	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа", LALA и YTE
414	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
415	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия"
416	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия" и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
417	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия" и LALAPG
418	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия" и YTE
419	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
420	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE
421	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Экспрессированная последовательность CH3C.35 Fc
422	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESWGFVWSTYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK SNWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.18.3.4-1 (СН3С.3.4-1)
423	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESWGHVWSTYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK SNWQQGYVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.18.3.4- 19 (СН3С.3.4-19)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
424	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVEQKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.18.3.2-3 (СН3С.3.2-3)
425	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVGVKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.3.2- 14 (CH3C.3.2-14)
426	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVHTKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.18.3.2- 24 (СН3С.3.2-24)
427	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESWGTVWGTYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK SNWQQGYVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.3.4- 26 (CH3C.3.4-26)
428	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESLGHVWVGTKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPK STWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.3.2- 17 (CH3C.3.2-17)
429	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1
430	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1
431	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1

SEQ	П	0
ID NO:	Последовательность	Описание
110.	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	
	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	Клон
432	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI	CH3C.35.S413
	AVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKS	
	EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	
422	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	Клон
433	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI	CH3C.35.23.3.1
	AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK	
	EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	
124	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	Клон
434	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI	CH3C.35.N390.1
	AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKS	
	EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	
435	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	Клон
433	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI	CH3C.35.23.6.1
	AVEWESFGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE	
	EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	
436	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	Клон СН3С.35.21 с
430	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	мутацией "выступа"
	AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK	
	EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	Клон СН3С.35.21 с
437	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	мутациями
15 /	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	"выступа" и LALA
	AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK	
	EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	Клон СН3С.35.21 с
438	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA	мутациями
	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	"выступа" и
	AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK	LALAPG
	EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	Клон СН3С.35.21 с
439	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	мутациями
,	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	"выступа" и ҮТЕ
	AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK	
	EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
440	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "выступа", LALA и YTE
441	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
442	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия"
443	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия" и LALA
444	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия" и LALAPG
445	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия" и YTE
446	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
447	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
448	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1. с мутацией "выступа"
449	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа" и LALA
450	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа" и LALAPG
451	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа" и YTE
452	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа", LALA и YTE
453	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
454	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "отверстия"
455	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.1. 1 с мутациями "отверстия" и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
456	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.1. с мутациями "отверстия" и LALAPG
457	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.1. 1 с мутациями "отверстия" и YTE
458	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.1. 1 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
459	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE
460	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутацией "выступа"
461	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа" и LALA
462	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа" и LALAPG
463	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа" и YTE

SEQ	П	0
ID NO:	Последовательность	Описание
464	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа", LALA и YTE
465	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
466	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия"
467	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" и LALA
468	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" и LALAPG
469	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия" и YTE
470	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
471	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
472	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутацией "выступа"
473	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "выступа" и LALA
474	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "выступа" и LALAPG
475	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "выступа" и YTE
476	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "выступа", LALA и YTE
477	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "выступа", LALAPG и YTE
478	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия"
479	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
480	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" и LALAPG
481	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия" и YTE
482	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия", LALA и YTE
483	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия", LALAPG и YTE
484	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями M201L и N207S
485	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
486	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
487	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
488	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
489	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
490	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
491	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями M201L и N207S
492	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
493	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
494	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
495	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
496	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
497	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
498	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями M201L и N207S
499	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
500	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
501	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
502	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
503	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S

SEQ		
ID NO:	Последовательность	Описание
504	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.3 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
505	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями M201L и N207S
506	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
507	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
508	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
509	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
510	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
511	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.4 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
512	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями M201L и N207S
513	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
514	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
515	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
516	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
517	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	
518	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21.17.2 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
519	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями M201L и N207S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
520	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
521	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
522	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
523	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
524	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
525	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
526	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями M201L и N207S
527	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
528	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
529	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
530	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
531	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
532	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTK EEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.21 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
533	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями M201L и N207S
534	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
535	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.20.1.1 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S

SEQ		
ID	Последовательность	Описание
NO:		
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	Клон СН3С.35.20.1.1 с
536	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA	мутациями
330	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	"выступа",
	AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE	LALAPG, а также
	EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	M201L и N207S
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	Клон
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	CH3C.35.20.1.1 c
537	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	мутациями
	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI	"отверстия", а
	AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE	также M201L и
	EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	N207S
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	Клон
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	CH3C.35.20.1.1 c
538	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	мутациями
	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI	"отверстия", LALA,
	AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE	а также М201L и
	EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	N207S
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	Клон
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	CH3C.35.20.1.1 c
539	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA	мутациями
	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI	"отверстия",
	AVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE	LALAPG, а также M201L и N207S
	EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	MIZUIL II NZU/S
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	IV
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	Клон СН3С.35.23.2.1 с
540	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI	мутациями M201L
	AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK	и N207S
	SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	112075
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	Клон
541	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	CH3C.35.23.2.1 c
341	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	мутациями
	AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK	"выступа", а также
	SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	M201L и N207S
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	Клон
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	CH3C.35.23.2.1 c
542	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA	мутациями
312	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	"выступа", LALA, а
	AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK	также M201L и
	SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	N207S
	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV	Клон
	SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV	СН3С.35.23.2.1 с
543	VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA	мутациями
	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	"выступа",
	AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSK	LALAPG, а также
	SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	M201L и N207S

SEQ		
ID	Последовательность	Описание
NO:		
544	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S
545	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
546	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSK SEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
547	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями M201L и N207S
548	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа", а также M201L и N207S
549	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "выступа", LALA, а также M201L и N207S
550	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "выступа", LALAPG, а также M201L и N207S
551	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.2.1 с мутациями "отверстия", а также M201L и N207S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
552	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия", LALA, а также M201L и N207S
553	PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKE EWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон СН3С.35.23.1.1 с мутациями "отверстия", LALAPG, а также M201L и N207S
554	X ₁ WESX ₂ GX ₃ X ₄ WX ₅ X ₆ X ₁ представляет собой E, L, S, V, W или Y; X ₂ представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y, F или W), M, P или V; X ₃ представляет собой T, N или V; X ₄ представляет собой E, I, P или V; X ₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A, I или V), S или T; и X ₆ представляет собой S, N, R или T	СН3С.35_ консенсусная последовательность _1
555	X ₁ KX ₂ X ₃ WQQGX ₄ VFX ₅ CX ₆ X ₁ представляет собой T, H или S; X ₂ представляет собой E, S, D, G, T, P, Q или R; X ₃ представляет собой E или R; X ₄ представляет собой F, H, K, Y или W; X ₅ представляет собой S, T или W; и X ₆ представляет собой S, C, P, M или W	СН3С.35_ консенсусная последовательность _2
556	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VX1WESX2GX3X4WX5X6YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV X7KX8X9WQQGX10VFX11CX12VMHEALHNHYTQKSLSL SPGK X1 представляет собой E, L, S, V, W или Y; X2 представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y, F или W), M, P или V; X3 представляет собой T, N или V; X4 представляет собой E, I, P или V; X5 представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A, I или V), S или T; X6 представляет собой S, N, R или T; X7 представляет собой T, H или S; X8 представляет собой E, S, D, G, T, P, Q или R; X9 представляет собой E или R; X10 представляет собой F, H, K, Y или W; X11 представляет собой S, T или W; и X12 представляет собой S, C, P, M или W	СН3С.35_ консенсусная последовательность _3

SEQ		
ID NO:	Последовательность	Описание
557	X ₁ WESX ₂ GX ₃ X ₄ WX ₅ X ₆ X ₁ представляет собой E, L или W; X ₂ представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y или F); X ₃ представляет собой T; X ₄ представляет собой E; X ₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A или V) или S; и X ₆ представляет собой S или N	консенсусная последовательность
558	X ₁ KX ₂ X ₃ WQQGX ₄ VFX ₅ CX ₆ X ₁ представляет собой T or S; X ₂ представляет собой E или S; X ₃ представляет собой E; X ₄ представляет собой F, H, Y или W; X ₅ представляет собой S; и X ₆ представляет собой S	СН3С.35_ консенсусная последовательность _5
559	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VX ₁ WESX ₂ GX ₃ X ₄ WX ₅ X ₆ YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV X ₇ KX ₈ X ₉ WQQGX ₁₀ VFX ₁₁ CX ₁₂ VMHEALHNHYTQKSLSL SPGK X ₁ представляет собой E, L или W; X ₂ представляет собой ароматическую аминокислоту (например, Y или F); X ₃ представляет собой T; X ₄ представляет собой E; X ₅ представляет собой алифатическую аминокислоту (например, A или V) или S; X ₆ представляет собой S или N; X ₇ представляет собой T или S; X ₈ представляет собой E или S; X ₉ представляет собой E; X ₁₀ представляет собой F, H, Y или W; X ₁₁ представляет собой S; и X ₁₂ представляет собой S	СН3С.35_ консенсусная последовательность _6
560	X ₁ WESX ₂ GX ₃ X ₄ WX ₅ X ₆ X ₁ представляет собой E, L или W; X ₂ представляет собой Y или F; X ₃ представляет собой T; X ₄ представляет собой E; X ₅ представляет собой S, A или V; и X ₆ представляет собой S или N	СН3С.35_ консенсусная последовательность _7
561	X ₁ KX ₂ X ₃ WQQGX ₄ VFX ₅ CX ₆ X ₁ представляет собой Т или S; X ₂ представляет собой Е или S; X ₃ представляет собой E; X ₄ представляет собой F; X ₅ представляет собой S; и X ₆ представляет собой S	СН3С.35_ консенсусная последовательность _8

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
562	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA $VX_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV X_7KX_8X_9WQQGX_{10}VFX_{11}CX_{12}VMHEALHNHYTQKSLSL SPGK X_1 представляет собой E, L или W; X_2 представляет собой Y или F; X_3 представляет собой T; X_4 представляет собой E; X_5 представляет собой S, A или V; X_6 представляет собой S или N; X_7 представляет собой T или S; X_8 представляет собой E или S; X_9 представляет собой E; X_{10} представляет собой F; X_{11} представляет собой S; и X_{12} представляет собой S$	СН3С.35_ консенсусная последовательность_9
563	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VXWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK Х представляет собой E, L, S, V, W или Y	СН3С.35_ консенсусная последовательность _10
564	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESXGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой Y, F, M, P, V или W	СН3С.35_ консенсусная последовательность _11
565	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGXEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой T, N или V	СН3С.35_ консенсусная последовательность _12
566	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTXWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой E, I, P или V	СН3С.35_ консенсусная последовательность _13
567	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWXSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой S, A, I, T или V	СН3С.35_ консенсусная последовательность _14
568	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSXYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой S, N, R или T	СН3С.35_ консенсусная последовательность _15
569	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVXKE EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой Т, Н или S	СН3С.35_ консенсусная последовательность _16

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
570	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKX EWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой E, S, D, G, T, P, Q или R	СН3С.35_ консенсусная последовательность _17
571	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE XWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой Е или R	СН3С.35_ консенсусная последовательность _18
572	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGXVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой F, H, K или Y	СН3С.35_ консенсусная последовательность _19
573	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFXCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой S, T или W	СН3С.35_ консенсусная последовательность _20
574	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKE EWQQGFVFSCXVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X представляет собой S, C, P, M или W	СН3С.35_ консенсусная последовательность _21
575	$X_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6X_7$ X_1 представляет собой E или W; X_2 представляет собой V, W, L или Y; X_3 представляет собой L, P, F, T или H; X_4 представляет собой P, V или E; X_5 представляет собой A, S, V или G; X_6 представляет собой L, H, Q, G, V, A N, D, T или E; и X_7 представляет собой T, F, Q, V или Y	СН3С.18_ консенсусная последовательность _1
576	$X_1KSX_2WQQGX_3$ X_1 представляет собой L, S, E, A или P; X_2 представляет собой E, D, T или N; и X_2 представляет собой W, Y, H или F	СН3С.18_ консенсусная последовательность _2

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
577	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA $VX_1WESX_2GX_3X_4WX_5X_6X_7KTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VX_8KSX_9WQQGX_{10}VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X_1 представляет собой Е или W; X_2 представляет собой V, W, L или Y; X_3 представляет собой L, P, F, T или H; X_4 представляет собой P, V или E; X_5 представляет собой A, S, V или G; X_6 представляет собой L, H, Q, G, V, A N, D, T или E; X_7 представляет собой T, F, Q, V или Y; X_8 представляет собой L, S, E, A или P; X_9 представляет собой E, D, T или N; и X_{10} представляет собой W, Y, H или F$	СН3С.18_ консенсусная последовательность _3
578	Х ₁ WESX ₂ GX ₃ X ₄ WX ₅ X ₆ X ₇ Х ₁ представляет собой Е или W; Х ₂ представляет собой W, L или Y; Х ₃ представляет собой Т или H; Х ₄ представляет собой V; Х ₅ представляет собой A, S или V; Х ₆ представляет собой V, T или N; и Х ₇ представляет собой Y или Q	СН3С.18_ консенсусная последовательность _4
579	$X_1KSX_2WQQGX_3$ X_1 представляет собой P ; X_2 представляет собой T или N ; и X_3 представляет собой W , Y , H или F	СН3С.18_ консенсусная последовательность 5
580	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VX1WESX2GX3X4WX5X6X7KTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VX8KSX9WQQGX10VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK X1 представляет собой Е или W; X2 представляет собой W, L или Y; X3 представляет собой Т или H; X4 представляет собой V; X5 представляет собой A, S или V; X6 представляет собой V, T или N; X7 представляет собой Y или Q; X8 представляет собой P; X9 представляет собой T или N; и X10 представляет собой W, Y, H или F	СН3С.18_ консенсусная последовательность _6
581	EWESFGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СН3С
582	SKEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С
583	EWESYGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СН3С
584	SKSEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СН3С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
		Модифицированная
585	EWESFGTEWSN	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
586	SKEEWQQGF	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
587	EWESYGTEWSS	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
588	SKSEWQQGF	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
589	EWESYGTEWVN	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
590	SKEEWQQGF	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
591	EWESYGTEWSN	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
592	SKSEWQQGF	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
593	EWESFGTEWVN	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
594	SKEEWQQGF	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
595	WGFVWSTY	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
596	PKSNWQQGF	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
597	WGHVWSTY	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
598	PKSNWQQGY	последовательность
		связывания СНЗС
		Модифицированная
599	LGHVWVEQ	последовательность
		связывания СНЗС
	1	13.10212411111 0115 0

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
		Модифицированная
600	PKSTWQQGW	последовательность
		связывания СН3С
		Модифицированная
601	LGHVWVGV	последовательность
		связывания СН3С
.		Модифицированная
602	PKSTWQQGW	последовательность
		связывания СН3С
602		Модифицированная
603	LGHVWVHT	последовательность
		связывания СН3С
CO 4		Модифицированная
604	PKSTWQQGW	последовательность
		связывания СН3С
605		Модифицированная
605	WGTVWGTY	последовательность
		связывания СН3С
(0)		Модифицированная
606	PKSNWQQGY	последовательность
		связывания СН3С
607		Модифицированная
607	LGHVWVGT	последовательность
		связывания СН3С
600		Модифицированная
608	PKSTWQQGW	последовательность
		связывания СН3С
609	XWESYGTEWSS	Модифицированная
009		последовательность
	X представляет собой E, L, S, V, W или Y	связывания СН3С
610	WWESXGTEWSS	Модифицированная
610		последовательность
	X представляет собой Y, F, M, P, V или W	связывания СН3С
611	WWESYGXEWSS	Модифицированная
011		последовательность
	X представляет собой T, N или V	связывания СН3С
612	WWESYGTXWSS	Модифицированная
012		последовательность
	X представляет собой Е, I, Р или V	связывания СН3С
613	WWESYGTEWXS	Модифицированная
013		последовательность
	X представляет собой S, A, I, T или V	связывания СНЗС
614	WWESYGTEWSX	Модифицированная
614		последовательность
	X представляет собой S, N, R или T	связывания СН3С

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
C 1. 5	XKEEWQQGFVFSCS	Модифицированная
615		последовательность
	X представляет собой T, H или S	связывания СН3С
616	TKXEWQQGFVFSCS	Модифицированная
010		последовательность
	Х представляет собой E, S, D, G, T, P, Q или R	связывания СН3С
617	TKEXWQQGFVFSCS	Модифицированная
017	V P	последовательность
	Х представляет собой Е или R	связывания СНЗС
618	TKEEWQQGXVFSCS	Модифицированная
	Х представляет собой F, H, K или Y	последовательность связывания СН3С
	TKEEWQQGFVFXCS	Модифицированная
619	TREEWQQGFVFACS	последовательность
	X представляет собой S, T или W	связывания СН3С
	TKEEWQQGFVFSCX	Модифицированная
620	TRLEWQQOIVISCA	последовательность
	X представляет собой S, C, P, M или W	связывания СН3С
621	TXWSX	Мотив клона
	NSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH	
	ANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE	Консенсусная
	SLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAXLSFFGHAHLGTGDPYT	последовательность
622	PGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNME	между TfR
	GDCPSDWKTDSTCRMVTSENKNVKLTVS	человека и
		яванского макака
	X представляет собой D или E	
	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT	
	VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL	
	GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA	
623	PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED	TGTTG1
023	PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL	IGHG1_P01857
	TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP	
	REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ	
	QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV	
	SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG	
	TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV	
	AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV	
624	QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV	IGHG2 P01859
	HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ	
	VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNG	
	QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV	
	FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
625	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPR CPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTP PPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK	IGHG3_P01860
626	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	IGHG4_P01861

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 1. Полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194; и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1.
- 2. Полипептид по п. 1, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих в себя 153, 164, 165 и 188.
- 3. Полипептид по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одну, две, или три замены в положениях, включающих в себя 187, 197 и 199.
- 4. Полипептид по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный полипептид связывается с апикальным доменом трансферринового рецептора.
- 5. Полипептид по п. 4, отличающийся тем, что указанный полипептид связывается с трансферриновым рецептором без ингибирования связывания трансферрина с трансферриновым рецептором.
- 6. Полипептид по п. 4 или п. 5, отличающийся тем, что указанный полипептид связывается с эпитопом, который содержит аминокислоту 208 последовательности трансферринового рецептора.
- 7. Полипептид по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Trp в положении 161.
- 8. Полипептид по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит ароматическую аминокислоту в положении 194.
- 9. Полипептид по п. 8, отличающийся тем, что указанная ароматическая аминокислота в положении 194 представляет собой Trp или Phe.
- 10. Полипептид по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 157, представляющего собой Leu, Туг, Мет или Val; положения 159, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 160, представляющего собой Val, Pro или кислую аминокислоту; положения 161, представляющего собой Trp; положения 162, представляющего собой Val, Ser или Ala;

положения 186, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 189, представляющего собой Thr или кислую аминокислоту; и положения 194, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe.

- 11. Полипептид по п. 10, отличающийся тем, что указанный модифицированный СНЗ-домен включает в себя два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 157, представляющего собой Leu, Туг, Met или Val; положения 159, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 160, представляющего собой Val, Pro или кислую аминокислоту; положения 161, представляющего собой Trp; положения 162, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 186, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 189, представляющего собой Thr или кислую аминокислоту; И положения 194. представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe.
- 12. Полипептид по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит содержит Leu или Met в положении 157; Leu, His или Pro в положении 159; Val в положении 160; Trp в положении 161; Val или Ala в положении 162; Pro в положении 186; Thr в положении 189; и/или Trp в положении 194.
- 13. Полипептид по п. 12, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 164.
- 14. Полипептид по п. 12 или п. 13, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 153.
- 15. Полипептид по любому из пп. 12-14, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Gln, Phe или His в положении 165.
- 16. Полипептид по п. 12 или п. 13, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp в положении 153 и/или Gln в положении 165.
- 17. Полипептид по любому из пп. 10-16, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранных из следующих положений: положения 187, представляющего собой Lys, Arg, Gly или Pro; положения 197, представляющего собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положения 199, представляющего собой Ser, Trp или Gly.
- 18. Полипептид по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Туг в положении 157, Thr в положении 159, Glu или Val в положении 160, Trp в положении 161, Ser в положении 162, Ser или Thr в

положении 186, Glu в положении 189 и/или Phe в положении 194.

- 19. Полипептид по п. 18, отличающийся тем, чтоуказанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 153.
- 20. Полипептид по п. 18 или п. 19, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Gln в положении 188.
- 21. Полипептид по п. 18, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит Trp в положении 153 и/или Glu в положении 188.
- 22. Полипептид по любому из пп. 18-21, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Asn в положении 163.
- 23. Полипептид по любому из пп. 2-6, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество из следующих замен: Тгр в положении 153; Thr в положении 159; Тгр в положении 161; Val в положении 162; Ser или Thr в положении 186; Glu в положении 188; и/или Phe в положении 194.
- 24. Полипептид по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.
- 25. Полипептид по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 114-220 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194.
- 26. Полипептид по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит аминокислоты 157-163 и/или 186-194 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.
- 27. Полипептид по любому из пп. 2-6, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 153, представляющего собой Тгр, Leu или Glu; положения 157, представляющего собой Туг или Phe; положения 159, представляющего собой Thr; положения 160, представляющего собой Glu; положения 161, представляющего собой Тгр; положения 162, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 163, представляющего собой Ser или Asn; положения 186, представляющего собой Thr или Ser; положения 188, представляющего собой Glu или Ser; положения 189, представляющего собой Glu; и положения 194, представляющего собой Phe.
- 28. Полипептид по п. 27, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующих

положений: положения 153, представляющего собой Trp, Leu или Glu; положения 157, представляющего собой Tyr или Phe; положения 159, представляющего собой Thr; положения 160, представляющего собой Glu; положения 161, представляющего собой Trp; положения 162, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 163, представляющего собой Ser или Asn; положения 186, представляющего собой Thr или Ser; положения 188, представляющего собой Glu или Ser; положения 189, представляющего собой Glu; и положения 194, представляющего собой Phe.

- 29. Полипептид по п. 28, отличающийся тем, что указанный модифицированный СНЗ-домен содержит 11 положений, как указано ниже: положение 153, представляющее собой Тгр, Leu или Glu; положение 157, представляющее собой Туг или Phe; положение 159, представляющее собой Glu; положение 161, представляющее собой Trp; положение 162, представляющее собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 163, представляющее собой Ser или Asn; положение 186, представляющее собой Thr или Ser; положение 188, представляющее собой Glu или Ser; положение 189, представляющее собой Glu; и положение 194, представляющее собой Phe.
- 30. Полипептид по п. 28 или п. 29, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435.
- 31. Полипептид по п. 30, отличающийся тем, что остатки по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 положений, соответствующих положениям 153, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 186, 187, 188, 189, 194, 197 и 199 любой из последовательностей SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435 не удалены и не заменены.
- 32. Полипептид по любому из пп. 1-31, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Тгр в положении 139 или (ii) Ser в положении 139, Ala в положении 141 и Val в положении 180, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 33. Полипептид по любому из пп. 1-32, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Leu в положении 201 и Ser в положении 207, или (ii) Ser или Ala в положении 207, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 34. Полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество замен в наборе аминокислотных положений, содержащем 153, 157, 159, 160, 162, 163, 186, 188, 189, 194,

- 197 и 199; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 13.
- 35. Полипептид по п. 34, отличающийся тем, что указанный модифицированный СНЗ-домен содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp или Туг в положении 153; ароматическую аминокислоту, Met, Pro или Val в положении 157; Thr, Asn или Val в положении 159; Glu, Ile, Pro или Val в положении 160; алифатическую аминокислоту, Ser или Thr в положении 162; Ser, Asn, Arg или Thr в положении 163; Thr, His или Ser в положении 186; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 188; Glu или Arg в положении 189; Phe, His, Lys, Туг или Trp в положении 194; Ser, Thr или Trp в положении 197; и Ser, Cys, Pro, Met или Trp в положении 199.
- 36. Полипептид по п. 35, отличающийся тем, что указанная ароматическая аминокислота в положении 157 представляет собой Туг, Phe или Тгр, а указанная алифатическая аминокислота в положении 162 представляет собой Ala, Ile или Val.
- 37. Полипептид по любому из пп. 34 или 35, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu, Leu или Trp в положении 153; ароматическую аминокислоту в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; алифатическую аминокислоту или Ser в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; Phe, His, Туг или Trp в положении 194; Ser в положении 197; и Ser в положении 199.
- 38. Полипептид по п. 37, отличающийся тем, что указанная ароматическая аминокислота в положении 157 представляет собой Туг или Phe, а алифатическая аминокислота в положении 162 представляет собой Ala или Val.
- 39. Полипептид по любому из пп. 34-38, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет последовательность SEQ ID NO: 556 или 559.
- 40. Полипептид по любому из пп. 34-38, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит одну замену в наборе аминокислотных положений, содержащем 153, 157, 159, 160, 162, 163, 186, 188, 189, 194, 197 и 199.
- 41. Полипептид по п. 40, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет последовательность любой из SEQ ID NO: 563-574.
- 42. Полипептид по любому из пп. 34 или 35, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu, Leu или Trp в положении 153; Туг или Phe в положении 157; Thr в положении 159; Glu в положении 160; Ala, Val или Ser в положении 162; Ser или Asn в положении 163; Thr или Ser в положении 186; Glu или Ser в положении 188; Glu в положении 189; Phe в положении 194; Ser в положении 197; и Ser в положении

199.

- 43. Полипептид по п. 42, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет последовательность SEQ ID NO: 562.
- 44. Полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит одну или большее количество замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 153, 157, 159, 160, 162, 163, 164, 186, 189 и 194; и при этом замены и положения определены со ссылкой на последовательность SEQ ID NO: 9.
- 45. Полипептид по п. 44, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu или Trp в положении 153; Val, Trp, Leu или Tyr в положении 157; Leu, Pro, Phe, Thr или His в положении 159; Pro, Val или Glu в положении 160; Ala, Ser, Val или Gly в положении 162; Leu, His, Gln, Gly, Val, Ala, Asn, Asp, Thr или Glu в положении 163; Thr, Phe, Gln, Val или Tyr в положении 164; Leu, Ser, Glu, Ala или Pro в положении 186; Glu, Asp, Thr или Asn в положении 189; и Trp, Tyr, Phe или His в положении 194.
- 46. Полипептид по п. 45, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Glu или Trp в положении 153; Trp, Leu или Tyr в положении 157; Thr или His в положении 159; Val в положении 160; Ala, Ser или Val в положении 162; Val, Asn или Thr в положении 163; Gln или Tyr в положении 164; Pro в положении 186; Thr или Asn в положении 189; и Trp, Tyr, Phe или His в положении 194.
- 47. Полипептид по любому из пп. 44-46, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет последовательность SEQ ID NO: 577 или 580.
- 48. Полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН3-домен содержит пять, шесть, семь или восемь замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213; и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1.
- 49. Полипептид по п. 48, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит Gly в положении 210; Phe в положении 211; и/или Asp в положении 213.
- 50. Полипептид по п. 48, отличающийся тем, что указанный модифицированный СНЗ-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 118, представляющего собой Phe или Ile; положения 119, представляющего собой Asp, Glu, Gly, Ala или Lys; положения 120, представляющего

- собой Туг, Met, Leu, Ile или Asp; положения 122, представляющего собой Thr или Ala; положения 210, представляющего собой Gly; положения 211, представляющего собой Phe; положения 212, представляющего собой His, Tyr, Ser или Phe; и положения 213, представляющего собой Asp.
- 51. Полипептид по п. 50, отличающийся тем, что указанный модифицированный СНЗ-домен содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 118, представляющего собой Phe или Ile; положения 119, представляющего собой Asp, Glu, Gly, Ala или Lys; положения 120, представляющего собой Tyr, Met, Leu, Ile или Asp; положения 122, представляющего собой Thr или Ala; положения 210, представляющего собой Gly; положения 211, представляющего собой Phe; положения 212, представляющего собой His, Tyr, Ser или Phe; и положения 213, представляющего собой Asp.
- 52. Полипептид по любому из пп. 48-51, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 114-220 любой из SEQ ID NO: 30-46.
- 53. Полипептид по любому из пп. 48-51, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 114-220 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 или 213.
- 54. Полипептид по любому из пп. 48-53, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен содержит аминокислоты 118-122 и/или 210-213 любой из последовательности SEQ ID NO: 30-46.
- 55. Полипептид по любому из пп. 34-54, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Тгр в положении 139 или (ii) Ser в положении 139, Ala в положении 141 и Val в положении 180, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 56. Полипептид по любому из пп. 34-55, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен дополнительно содержит (i) Leu в положении 201 и Ser в положении 207, или (ii) Ser или Ala в положении 207, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 57. Полипептид по любому из пп. 1-56, отличающийся тем, что соответствующий немодифицированный СН3-домен представляет собой СН3-домен IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.
 - 58. Полипептид по любому из пп. 1-57, отличающийся тем, что указанный

полипептид присоединен к домену СН2.

- 59. Полипептид по п. 58, отличающийся тем, что указанный СН2-домен содержит один или оба из следующих наборов модификаций со ссылкой на аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1:
 - (a) Ala в положении 7 и в положении 8; а также
 - (b) Туг в положении 25, Thr в положении 27, а также Glu в положении 29.
- 60. Полипептид по п. 59, отличающийся тем, что указанный набор (а) дополнительно содержит Gly в положении 102.
- 61. Полипептид по любому из пп. 58-60, отличающийся тем, что указанный СН2-домен представляет собой СН2-домен IgG1, IgG2, IgG2 или IgG4 человека.
- 62. Полипептид по любому из пп. 58-61, отличающийся тем, что указанный полипептид дополнительно присоединен к Fab.
- 63. Полипептид по любому из пп. 58-62, отличающийся тем, что указанный полипептид представляет собой первый полипептид димера, при этом указанный димер является одновалентным для связывания трансферринового рецептора.
- 64. Полипептид по любому из пп. 58-62, отличающийся тем, что указанный полипептид представляет собой первый полипептид, который образует димер со вторым полипептидом, который связывается с трансферриновым рецептором и содержит модифицированный СН3-домен.
- 65. Полипептид по п. 64, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН3-домен второго полипептида является таким же, как и модифицированный СН3-домен первого полипептида.
- 66. Полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1.
- 67. Полипептид по п. 66, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Glu в положении 60 и/или Trp в положении 61.
- 68. Полипептид по п. 66, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 47, представляющего собой Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр; положения 49, представляющего собой Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг; положения 56, представляющего собой Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe; положения 58,

представляющего собой Arg, Ser, Ala или Gly; положения 59, представляющего собой Туг, Trp, Arg или Val; положения 60, представляющего собой Glu; положения 61, представляющего собой Trp или Туг; положения 62, представляющего собой Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val или Asp; и положения 63, представляющего собой Leu, Trp, Arg, Asn, Tyr или Val.

- 69. Полипептид по п. 68, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит по меньшей мере, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или положений, выбранных следующих положений: девять из положения 47, представляющего собой Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Туг или Тгр; положения 49, представляющего собой Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг; положения 56, представляющего собой Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe; положения 58, представляющего собой Arg, Ser, Ala или Gly; положения 59, представляющего собой Туг, Trp, Arg или Val; положения 60, представляющего собой Glu; положения 61, представляющего собой Trp или Tyr; положения 62, представляющего собой Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val или Asp; и положения 63, представляющего собой Leu, Trp, Arg, Asn, Tyr или Val.
- 70. Полипептид по п. 68 или п. 69, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn или Туг в положении 47; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Туг в положении 49; Asp, Pro, Met, Leu, Ala или Asn в положении 56; Arg, Ser или Ala в положении 58; Туг, Trp, Arg или Val в положении 59; Glu в положении 60; Trp в положении 61; Gln, Tyr, His, Ile, Phe или Val в положении 62; и/или Leu, Trp, Arg, Asn или Туг в положении 63.
- 71. Полипептид по любому из пп. 68-70, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Arg в положении 58; Туг или Trp в положении 59; Glu в положении 60; Trp в положении 61; и/или Arg или Trp в положении 63.
- 72. Полипептид по любому из пп. 66-71, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 47-62.
- 73. Полипептид по любому из пп. 66-71, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63.
- 74. Полипептид по любому из пп. 66-73, отличающийся тем, что указанный модифицированный CH2-домен содержит аминокислоты 47-49 и/или 56-63 любой из SEQ

ID NO: 47-62.

- 75. Полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1.
- 76. Полипептид по п. 75, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Рго в положении 43, Glu в положении 68 и/или Туг в положении 70.
- 77. Полипептид по п. 75, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 39, представляющего собой Pro, Phe, Ala, Met или Asp; положения 40, представляющего собой Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Туг; положения 41, представляющего собой Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu; положения 42, представляющего собой Pro, Val, Ala, Thr или Asp; положения 43, представляющего собой Pro, Val или Phe; положения 44, представляющего собой Trp, Gln, Thr или Glu; положения 68, представляющего собой Glu, Val, Thr, Leu или Trp; положения 70, представляющего собой Туг, His, Val или Asp; положения 71, представляющего собой Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val; и положения 72, представляющего собой Туг, Asn, Asp, Ser или Pro.
- 78. Полипептид по п. 77, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять положений, выбранных из следующих положений: положения 39, представляющего собой Pro, Phe, Ala, Met или Asp; положения 40, представляющего собой Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Туг; положения 41, представляющего собой Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu; положения 42, представляющего собой Pro, Val, Ala, Thr или Asp; положения 43, представляющего собой Pro, Val или Phe; положения 44, представляющего собой Trp, Gln, Thr или Glu; положения 68, представляющего собой Glu, Val, Thr, Leu или Trp; положения 70, представляющего собой Tyr, His, Va или Asp; положения 71, представляющего собой Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val; и положения 72, представляющего собой Туг, Asn, Asp, Ser или Pro.
- 79. Полипептид по п. 77 или п. 78, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Pro, Phe или Ala в положении 39; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala или Ile в положении 40; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe или Trp в положении 41; Pro, Val или Ala в положении 42; Pro в положении 43; Trp или Gln в положении 44; Glu в положении 68; Туг в положении 70; Thr, His или Gln в положении 71; и/или Туг, Asn, Asp

или Ser в положении 72.

- 80. Полипептид по п. 77 или 78, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Меt в положении 39; Leu или Glu в положении 40; Trp в положении 41; Pro в положении 42; Val в положении 43; Thr в положении 44; Val или Thr в положении 68; His в положении 70; His, Arg или Asn в положении 71; и/или Pro в положении 72.
- 81. Полипептид по п. 77 или 78, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Asp в положении 39; Asp в положении 40; Leu в положении 41; Thr в положении 42; Phe в положении 43; Gln в положении 44; Val или Leu в положении 68; Val в положении 70; Thr в положении 71; и/или Pro в положении 72.
- 82. Полипептид по любому из пп. 75-81, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из SEQ ID NO: 63-85.
- 83. Полипептид по любому из пп. 75-81, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72.
- 84. Полипептид по любому из пп. 75-83, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит аминокислоты 39-44 и/или 68-72 любой из SEQ ID NO: 63-85.
- 85. Полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1.
- 86. Полипептид по п. 85, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 41, представляющего собой Val или Asp; положения 42, представляющего собой Pro, Met или Asp; положения 43, представляющего собой Pro или Trp; положения 44, представляющего собой Arg, Trp, Glu или Thr; положения 45, представляющего собой Met, Tyr или Trp; положения 65, представляющего собой Leu или Trp; положения 66, представляющего собой Thr, Val, Ile или Lys; положения 67, представляющего собой Ser, Lys, Ala или Leu; положения 69, представляющего собой His,

Leu или Pro; и положения 73, представляющего собой Val или Trp.

- 87. Полипептид по п. 86, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять положений, выбранных из следующих положений: положения 41, представляющего собой Val или Asp; положения 42, представляющего собой Pro, Met или Asp; положения 43, представляющего собой Pro или Trp; положения 44, представляющего собой Arg, Trp, Glu или Thr; положения 45, представляющего собой Met, Tyr или Trp; положения 65, представляющего собой Leu или Trp; положения 66, представляющего собой Thr, Val, Ile или Lys; положения 67, представляющего собой Ser, Lys, Ala или Leu; положения 69, представляющего собой His, Leu или Pro; и положения 73, представляющего собой Val или Trp.
- 88. Полипептид по п. 86 или п. 87, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Val в положении 41; Pro в положении 42; Pro в положении 43; Arg или Trp в положении 44; Met в положении 45; Leu в положении 65; Thrт в положении 66; Ser в положении 67; His в положении 69; и/или Val в положении 73.
- 89. Полипептид по п. 86 или п. 87, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Asp в положении 41; Met или Asp в положении 42; Trp в положении 43; Glu или Thr в положении 44; Туг или Trp в положении 45; Trp в положении 65; Val, Ile или Lys в положении 66; Lys, Ala или Leu в положении 67; Leu или Pro в положении 69; и/или Trp в положении 73.
- 90. Полипептид по любому из пп. 85-89, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из последовательности SEQ ID NO: 86-90.
- 91. Полипептид по любому из пп. 85-89, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 последовательности SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73.
- 92. Полипептид по любому из пп. 85-91, отличающийся тем, что указанный модифицированный CH2-домен содержит аминокислоты 41-45 и/или 65-73 любой из SEQ ID NO: 86-90.
- 93. Полипептид, содержащий модифицированный СН2-домен, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, при этом указанный модифицированный СН2-домен содержит пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и

104, и при этом замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1.

- 94. Полипептид по п. 93, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Trp в положении 103.
- 95. Полипептид по п. 93 или п. 94, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен включает в себя по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 45, представляющего собой Тгр, Val, Ile или Ala; положения 47, представляющего собой Тгр или Gly; положения 49, представляющего собой Туг, Arg или Glu; положения 95, представляющего собой Ser, Arg или Gln; положения 97, представляющего собой Val, Ser или Phe; положения 99, представляющего собой Ile, Ser или Тгр; положения 102, представляющего собой Тгр, Thr, Ser, Arg или Asp; положения 103, представляющего собой Тгр; и положения 104, представляющего собой Ser, Lys, Arg или Val.
- 96. Полипептид по п. 95, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит по меньшей мере, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять положений, выбранных из следующих положений: положения 45, представляющего собой Тгр, Val, Ile или Ala; положения 47, представляющего собой Тгр или Gly; положения 49, представляющего собой Туг, Arg или Glu; положения 95, представляющего собой Ser, Arg или Gln; положения 97, представляющего собой Val, Ser или Phe; положения 99, представляющего собой Ile, Ser или Тгр; положения 102, представляющего собой Тгр, Thr, Ser, Arg или Asp; положения 103, представляющего собой Тгр; и положения 104, представляющего собой Ser, Lys, Arg или Val.
- 97. Полипептид по п. 93 или п. 94, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит Val или Ile в положении 45; Gly вв положении 47; Arg в положении 49; Arg в положении 95; Ser в положении 97; Ser в положении 99; Thr, Ser или Arg в положении 102; Trp в положении 103; и/или Lys или Arg в положении 104.
- 98. Полипептид по любому из пп. 93-97, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 4-113 любой из последовательности SEQ ID NO: 91-95.
- 99. Полипептид по любому из пп. 93-97, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 4-113 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104.

- 100. Полипептид по любому из пп. 93-99, отличающийся тем, что указанный модифицированный CH2-домен содержит аминокислоты 45-49 и/или 95-104 любой из последовательности SEQ ID NO: 91-95.
- 101. Полипептид по любому из пп. 66-100, отличающийся тем, что соответствующий немодифицированный СН2-домен представляет собой СН2-домен IgG1, IgG2, IgG2 или IgG4 человека.
- 102. Полипептид по любому из пп. 66-101, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен содержит один или оба из следующих наборов модификаций со ссылкой на аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1:
- (a) Ala в положении 7 и в положении 8; а также
- (b) Туг в положении 25, Thr в положении 27, а также Glu в положении 29.
- 103. Полипептид по п. 102, отличающийся тем, что указанный набор (a) дополнительно содержит Gly в положении 102.
- 104. Полипептид по любому из пп. 66-103, отличающийся тем, что указанный полипептид присоединен к домену СН3.
- 105. Полипептид по п. 104, отличающийся тем, что указанный СН3-домен содержит (i) Тгр в положении 139 или (ii) Ser в положении 139, Ala в положении 141 и Val в положении 180, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 106. Полипептид по п. 104 или п. 105, отличающийся тем, что указанный СНЗ-домен содержит (i) Leu в положении 201 и Ser в положении 207, или (ii) Ser или Ala в положении 207, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 107. Полипептид по любому из пп. 104-106, отличающийся тем, что указанный полипептид дополнительно присоединен к Fab.
- 108. Полипептид по любому из пп. 104-107, отличающийся тем, что указанный полипептид представляет собой первый полипептид димера, при этом указанный димер является одновалентным для связывания трансферринового рецептора.
- 109. Полипептид по любому из пп. 104-107, отличающийся тем, что указанный полипептид представляет собой первый полипептид, который образует димер со вторым полипептидом, который связывается с трансферриновым рецептором и содержит модифицированный СН2-домен.
- 110. Полипептид по п. 109, отличающийся тем, что указанный модифицированный СН2-домен второго полипептида является таким же, как и модифицированный СН2-домен первого полипептида.

111. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий:

аминокислоты 157-194 любой из последовательностей SEQ ID NO: 4-29, 236-299 и 422-435,

аминокислоты 118-213 любой из последовательностей SEQ ID NO: 30-46. аминокислоты 47-63 любой из последовательностей SEQ ID NO: 47-62, аминокислоты 39-72 любой из последовательностей SEQ ID NO: 63-85, аминокислоты 41-73 любой из последовательностей SEQ ID NO: 86-90, или аминокислоты 45-104 любой из последовательностей SEQ ID NO: 91-95, при этом положения аминокислот определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

- 112. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа" и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 349, 361, 373, 385, 397, 409, 436, 448, 460 и 472, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 113. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 350, 362, 374, 386, 398, 410, 437, 449, 461 и 473, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 114. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 351, 363, 375, 387, 399, 411, 438, 450, 462 и 474, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 115. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по

меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 352, 364, 376, 388, 400, 412, 439, 451, 463 и 475, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и Т29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

- 116. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 485, 492, 499, 506, 513, 520, 527, 534, 541 и 548, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 117. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 353, 365, 377, 389, 401, 413, 440, 452, 464 и 476, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 118. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 486, 493, 500, 507, 514, 521, 528, 535, 542 и 549, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 119. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "выступа", мутации, которые модулируют

эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 354, 366, 378, 390, 402, 414, 441, 453, 465 и 477, при этом мутация "выступа" представляет собой Т139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

- 120. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым "выступа", рецептором, содержащий мутацию мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 487, 494, 501, 508, 515, 522, 529, 536, 543 и 550, при этом мутация "выступа" представляет собой T139W, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 121. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия" и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 355, 367, 379, 391, 403, 415, 442, 454, 466, и 478, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 122. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 356, 368, 380, 392, 404, 416, 443, 455, 467 и 479, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 123. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85%

идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 357, 369, 381, 393, 405, 417, 444, 456, 468 и 480, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, а мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

- 124. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 358, 370, 382, 394, 406, 418, 445, 457, 469, и 481, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 125. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия", мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:488, 495, 502, 509, 516, 523, 530, 537, 544 и 551, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 126. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 359, 371, 383, 395, 407, 419, 446, 458, 470 и 482, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 127. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере

90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 489, 496, 503, 510, 517, 524, 531, 538, 545 и 552, при этом мутации "отверстия" представляют собой Т139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A и L8A, а мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

- 128. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутации "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 360, 372, 384, 396, 408, 420, 447, 459, 471 и 483, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность сыворотки, представляют собой M25Y, S27T и T29E, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 129. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий мутацию "отверстия", мутации, которые модулируют эффекторную функцию, мутации, которые повышают стабильность в сыворотке, и последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 490, 497, 504, 511, 518, 525, 532, 539, 546 и 553, при этом мутации "отверстия" представляют собой T139S, L141A и Y180V, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, представляют собой L7A, L8A и P102G, а мутации, которые повышают стабильность сыворотки, представляют собой M201L и N207S, как пронумеровано со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 130. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий последовательность любой из SEQ ID NO: 116-233, 303-345 и 581-608.
- 131. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 116-130 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131-139.
- 132. Полипептид по п. 131, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 121, 116, 122, 123 или 126-130 и вторую последовательность, независимо

выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136, 137 и 139.

- 133. Полипептид по п. 131, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 120 или 124-126 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 135, 138 и 139.
 - 134. Полипептид по п. 131, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 131,
 - b) SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 136,
 - c) SEQ ID NO: 117 и SEQ ID NO: 132,
 - d) SEQ ID NO: 118 и SEQ ID NO: 133,
 - e) SEQ ID NO: 119 и SEQ ID NO: 134,
 - f) SEQ ID NO: 120 и SEQ ID NO: 135,
 - g) SEQ ID NO: 121 и SEQ ID NO: 136,
 - h) SEQ ID NO: 122 и SEQ ID NO: 137,
 - i) SEQ ID NO: 123 и SEQ ID NO: 136,
 - j) SEQ ID NO: 124 и SEQ ID NO: 138,
 - k) SEQ ID NO: 125 и SEQ ID NO: 135,
 - 1) SEQ ID NO: 126 и SEQ ID NO: 139,
 - m) SEQ ID NO: 127 и SEQ ID NO: 136,
 - n) SEQ ID NO: 128 и SEQ ID NO: 136,
 - o) SEQ ID NO: 129 и SEQ ID NO: 136, или
 - p) SEQ ID NO: 130 и SEQ ID NO: 136.
- 135. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345.
 - 136. Полипептид по п. 135, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 340,
 - b) SEQ ID NO: 304 и SEQ ID NO: 340,
 - c) SEQ ID NO: 305 и SEQ ID NO: 340,
 - d) SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 341,
 - e) SEQ ID NO: 307 иd SEQ ID NO: 340,
 - f) SEQ ID NO: 308 и SEQ ID NO: 340,
 - g) SEQ ID NO: 309 и SEQ ID NO: 340,
 - h) SEQ ID NO: 310 и SEQ ID NO: 340,
 - i) SEQ ID NO: 311 и SEQ ID NO: 340,

- j) SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 341,
- k) SEQ ID NO: 313 и SEQ ID NO: 340,
- 1) SEQ ID NO: 314 и SEQ ID NO: 340,
- m) SEQ ID NO: 315 и SEQ ID NO: 340,
- n) SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 340,
- o) SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 340,
- p) SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 341,
- q) SEQ ID NO: 319 и SEQ ID NO: 340,
- r) SEQ ID NO: 320 и SEQ ID NO: 340,
- s) SEQ ID NO: 321 и SEQ ID NO: 340,
- t) SEQ ID NO: 322 и SEQ ID NO: 340,
- u) SEQ ID NO: 323 и SEQ ID NO: 340,
- v) SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 341,
- w) SEQ ID NO: 325 и SEQ ID NO: 340,
- x) SEQ ID NO: 326 и SEQ ID NO: 340,
- y) SEQ ID NO: 327 и SEQ ID NO: 340,
- z) SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 340,
- aa) SEQ ID NO: 329 и SEQ ID NO: 340,
- ab) SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 341,
- ac) SEQ ID NO: 331 и SEQ ID NO: 340,
- ad) SEQ ID NO: 332 и SEQ ID NO: 340,
- ae) SEQ ID NO: 306 и SEQ ID NO: 340,
- af) SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 340,
- ag) SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 138,
- ah) SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 340,
- ai) SEQ ID NO: 324 и SEQ ID NO: 340,
- аj) SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 340,
- ak) SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 138,
- al) SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 136,
- am) SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 136,
- an) SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 138,
- ao) SEQ ID NO: 333 и SEQ ID NO: 342,
- ар) SEQ ID NO: 335 и SEQ ID NO: 342,
- aq) SEQ ID NO: 336 и SEQ ID NO: 342,
- ar) SEQ ID NO: 334 и SEQ ID NO: 342,

- as) SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 138,
- at) SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 343,
- au) SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 345,
- av) SEQ ID NO: 337 и SEQ ID NO: 136,
- aw) SEQ ID NO: 338 и SEQ ID NO: 136,
- ax) SEQ ID NO: 339 и SEQ ID NO: 136,
- ay) SEQ ID NO: 330 и SEQ ID NO: 344,
- az) SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 343, или
- ba) SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 345.
- 137. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 581, 583, 585, 587, 589, 591 и 593, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 582, 884, 586, 588, 590, 592 и 594.
 - 138. Полипептид по п. 137, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 581 и SEQ ID NO: 582,
 - b) SEQ ID NO: 583 и SEQ ID NO: 584,
 - c) SEQ ID NO: 585 и SEQ ID NO: 586,
 - d) SEQ ID NO: 587 и SEQ ID NO: 588,
 - e) SEQ ID NO: 589 и SEQ ID NO: 590,
 - f) SEQ ID NO: 591 и SEQ ID NO: 592, или
 - g) SEQ ID NO: 593 и SEQ ID NO: 594.
- 139. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 554, 557 и 560 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 555, 558 и 561.
 - 140. Полипептид по п. 139, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 554 и SEQ ID NO: 555,
 - b) SEQ ID NO :557 и SEQ ID NO: 558, или
 - c) SEQ ID NO: 560 и SEQ ID NO: 561.
- 141. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 554, 557 и 560, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 340-345, 582, 584, 586, 588, 590, 592 и 594.
- 142. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 581, 583, 585,

- 587, 589, 591 и 593, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 555, 558 и 561.
- 143. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 609-614 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615-620.
- 144. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 303, 312, 315-318 и 328 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 135, 340 и 341.
 - 145. Полипептид по п. 144, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 340,
 - b) SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 340,
 - c) SEQ ID NO: 317 и SEQ ID NO: 340,
 - d) SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 340,
 - e) SEQ ID NO: 328 и SEQ ID NO: 341,
 - f) SEQ ID NO: 318 и SEQ ID NO: 340,
 - g) SEQ ID NO: 312 и SEQ ID NO: 340,
 - h) SEQ ID NO: 303 и SEQ ID NO: 341,
 - i) SEQ ID NO: 316 и SEQ ID NO: 135, или
 - j) SEQ ID NO: 315 и SEQ ID NO: 341.
- 146. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 595, 597, 599, 601, 603, 605 и 607, и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 596, 598, 600, 602, 604, 606 и 608.
 - 147. Полипептид по п. 146, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 595 и SEQ ID NO: 596,
 - b) SEQ ID NO: 597 и SEQ ID NO: 598,
 - c) SEQ ID NO: 599 и SEQ ID NO: 600,
 - d) SEQ ID NO: 601 и SEQ ID NO: 602,
 - e) SEQ ID NO: 603 и SEQ ID NO: 604,
 - f) SEQ ID NO: 605 и SEQ ID NO: 606, или
 - g) SEQ ID NO: 607 и SEQ ID NO: 608.
- 148. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 575 и 578 и

вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 576 и 579.

- 149. Полипептид по п. 148, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 575 и SEQ ID NO: 576, или
 - b) SEQ ID NO: 578 и SEQ ID NO: 579.
- 150. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 575 и 578 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136, 138 и 340-345.
- 151. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 303-339 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 576 и 579.
- 152. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 140-153 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-157.
 - 153. Полипептид по п. 152, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 140 и SEQ ID NO: 154,
 - b) SEQ ID NO: 141 и SEQ ID NO: 154,
 - c) SEQ ID NO: 142 и SEQ ID NO: 154,
 - d) SEQ ID NO: 143 и SEQ ID NO: 154,
 - e) SEQ ID NO: 144 и SEQ ID NO: 154,
 - f) SEQ ID NO: 145 и SEQ ID NO: 154,
 - g) SEQ ID NO: 146 и SEQ ID NO: 154,
 - h) SEQ ID NO: 147 и SEQ ID NO: 154,
 - i) SEQ ID NO: 148 и SEQ ID NO: 155,
 - j) SEQ ID NO: 149 и SEQ ID NO: 154,
 - k) SEQ ID NO: 140 и SEQ ID NO: 156,
 - 1) SEQ ID NO: 150 и SEQ ID NO: 156,
 - m) SEQ ID NO: 151 и SEQ ID NO: 157,
 - n) SEQ ID NO: 152 и SEQ ID NO: 155, или
 - o) SEQ ID NO: 153 и SEQ ID NO: 154.
- 154. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 158-171 и

вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 172-186.

- 155. Полипептид по п. 154, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 158 и SEQ ID NO: 172,
 - b) SEQ ID NO: 158 и SEQ ID NO: 179,
 - c) SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 173,
 - d) SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 181,
 - e) SEQ ID NO: 160 и SEQ ID NO: 174,
 - f) SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 175,
 - g) SEQ ID NO: 162 и SEQ ID NO: 176,
 - h) SEQ ID NO: 163 и SEQ ID NO: 177,
 - i) SEQ ID NO: 164 и SEQ ID NO: 178,
 - j) SEQ ID NO: 165 и SEQ ID NO: 180,
 - k) SEQ ID NO: 166 и SEQ ID NO: 182,
 - 1) SEQ ID NO: 167 и SEQ ID NO: 183,
 - m) SEQ ID NO: 168 и SEQ ID NO: 184,
 - n) SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 185,
 - o) SEQ ID NO: 170 и SEQ ID NO: 174, или
 - p) SEQ ID NO: 171 и SEQ ID NO: 186.
- 156. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 187-204 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 205-215.
 - 157. Полипептид по п. 156, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 187 и SEQ ID NO: 205,
 - b) SEQ ID NO: 187 и SEQ ID NO: 206,
 - c) SEQ ID NO: 188 и SEQ ID NO: 206,
 - d) SEQ ID NO: 189 и SEQ ID NO: 207,
 - e) SEQ ID NO: 190 и SEQ ID NO: 206,
 - f) SEQ ID NO: 191 и SEQ ID NO: 205,
 - g) SEQ ID NO: 192 и SEQ ID NO: 206,
 - h) SEQ ID NO: 193 и SEQ ID NO: 208,
 - i) SEQ ID NO: 194 и SEQ ID NO: 206,
 - j) SEQ ID NO: 195 и SEQ ID NO: 209,
 - k) SEQ ID NO: 196 и SEQ ID NO: 206,

- 1) SEQ ID NO: 197 и SEQ ID NO: 205,
- m) SEQ ID NO: 198 и SEQ ID NO: 206,
- n) SEQ ID NO: 199 и SEQ ID NO: 208,
- o) SEQ ID NO: 200 и SEQ ID NO: 206,
- p) SEQ ID NO: 201 и SEQ ID NO: 210,
- q) SEQ ID NO: 201 и SEQ ID NO: 211,
- r) SEQ ID NO: 201 и SEQ ID NO: 212,
- s) SEQ ID NO: 202 и SEQ ID NO: 212,
- t) SEQ ID NO: 203 и SEQ ID NO: 213,
- u) SEQ ID NO: 203 и SEQ ID NO: 214, или
- v) SEQ ID NO: 204 и SEQ ID NO: 215.
- 158. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 216-220 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 221-224.
 - 159. Полипептид по п. 158, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 216 и SEQ ID NO: 221,
 - b) SEQ ID NO: 217 и SEQ ID NO: 221,
 - c) SEQ ID NO: 218 и SEQ ID NO: 222,
 - d) SEQ ID NO: 219 и SEQ ID NO: 223, или
 - e) SEQ ID NO: 220 и SEQ ID NO: 224.
- 160. Полипептид, который специфически связывается с трансферриновым рецептором, содержащий первую последовательность любой из SEQ ID NO: 225-228 и вторую последовательность, независимо выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 229-233.
 - 161. Полипептид по п. 160, содержащий:
 - a) SEQ ID NO: 225 и SEQ ID NO: 229,
 - b) SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 230,
 - c) SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 231,
 - d) SEQ ID NO: 227 и SEQ ID NO: 232, или
 - e) SEQ ID NO: 228 и SEQ ID NO: 233.
- 162. Полинуклеотид, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид по любому из пп. 1 161.
 - 163. Вектор, содержащий указанный полинуклеотид по п. 162.
 - 164. Клетка-хозяин, содержащая указанный полинуклеотид по п. 162.

- 165. Способ получения полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен или модифицированный СН2-домен, включающий культивирование клетки-хозяина в условиях, в которых экспрессируется указанный полипептид, кодируемый полинуклеотидом по п. 162.
- 166. Фармацевтическая композиция, содержащая указанный полипептид по любому из пп. 1-161 и фармацевтически приемлемый носитель.
- 167. Способ трансцитоза композиции через эндотелий, при этом указанный способ включает приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей полипептид по любому из пп. 1- 161.
- 168. Способ по п. 167, отличающийся тем, что эндотелий представляет собой гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).
- 169. Способ конструирования СН3-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанный способ включает:
- (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН3-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен в наборе аминокислотных положений, включающем в себя: 157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194; или 118, 119, 120, 122, 210, 211, 212 и 213, при этом указанные замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 114-220 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (b) экспрессию полипептида, содержащего модифицированный CH3-домен; а также
- (с) определение того, связывается ли модифицированный СН3-домен с трансферриновым рецептором.
- 170. Способ по п. 169, отличающийся тем, что этапы экспрессии полипептида, содержащего модифицированный СН3-домен, и определение того, связывается ли модифицированный СН3-домен с трансферриновым рецептором. осуществляют с помощью дисплейных систем.
- 171. Способ по п. 170, отличающийся тем, что указанная дисплейная система представляет собой дисплейную систему клеточной поверхности, вирусную дисплейную систему, дисплейную систему мРНК, полисомную дисплейную систему или рибосомную дисплейную систему.
- 172. Способ по п. 169, отличающийся тем, что указанный полипептид, содержащий модифицированный СН3-домен, экспрессируется в виде растворимого белка.
- 173. Способ конструирования СН2-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанный способ включает:
 - (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь

по меньшей мере пять аминокислотных замен в наборе аминокислотных положений, включающем:

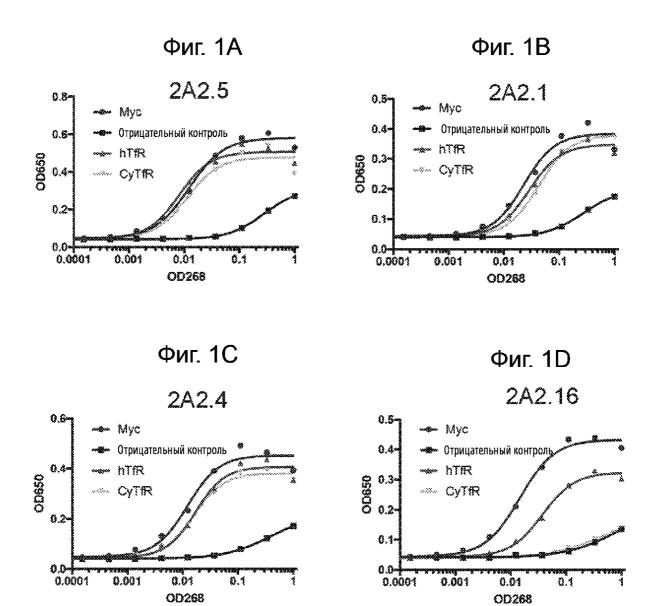
- 47, 49, 56, 58, 59, 60, 61, 62 и 63;
- 39, 40, 41, 42, 43, 44, 68, 70, 71 и 72;
- 41, 42, 43, 44, 45, 65, 66, 67, 69 и 73; или
- 45, 47, 49, 95, 97, 99, 102, 103 и 104;

при этом указанные замены и положения определены со ссылкой на аминокислоты 4-113 SEQ ID NO: 1;

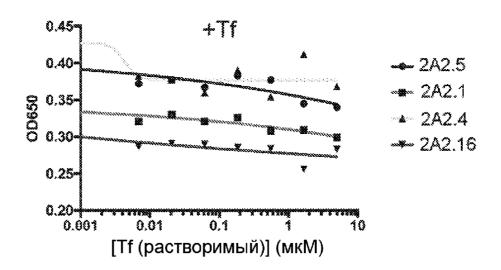
- (b) экспрессию полипептида, содержащего модифицированный CH2-домен; а также
- (с) определение того, связывается ли модифицированный СН2-домен с трансферриновым рецептором.
- 174. Способ по п. 173, отличающийся тем, что этапы экспрессии полипептида, содержащего модифицированный СН2-домен, и определение того, связывается ли модифицированный СН2-домен с трансферриновым рецептором. осуществляют с помощью дисплейных систем.
- 175. Способ по п.174, отличающийся тем, что указанная дисплейная система представляет собой дисплейную систему клеточной поверхности, вирусную дисплейную систему, дисплейную систему мРНК, полисомную дисплейную систему или рибосомную дисплейную систему.
- 176. Способ по п. 173, отличающийся тем, что указанный полипептид, содержащий модифицированный CH2-домен, экспрессируется в виде растворимого белка.
- 177. Способ конструирования СН3-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанный способ включает:
 - (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН3-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен, описанных в любом из пп. 1-23, 27-29, 32-33, 48-51 и 55-56; а также
 - (b) экспрессию и выделениеполипептида, содержащего модифицированный CH3-домен.
- 178. Способ конструирования СН2-домена для специфического связывания с трансферриновым рецептором, при этом указанный способ включает:
- (а) модифицирование полинуклеотида, который кодирует СН2-домен, чтобы иметь по меньшей мере пять аминокислотных замен, описанных в любом из пп. 66-71, 75-81, 85-89 и 93-97; а также
 - (b) экспрессию и выделение полипептида, содержащего модифицированный СН2-

домен.

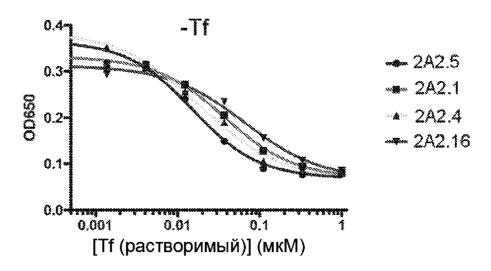
- 179. Способ усиления связывания модифицированного Fc полипептида, который содержит ненативный сайт связывания, с мишенью, при этом указанный способ включает: (а) введение одной или большего количества замен в одном или большем количестве положений в пределах 10 Å от нативного сайта связывания; а также
- (b) анализ модифицированного Fc полипептида на предмет связывания с мишенью.
- 180. Способ по п. 179, отличающийся тем, что ненативный сайт связывания содержит замены в одном или большем количестве из следующих положений:157, 159, 160, 161, 162, 163, 186, 189 и 194.
- 181. Способ по п. 179 или п. 180, отличающийся тем, что одну или большее количество замен в одном или большем количестве положений в пределах 10 Å от ненативного сайта связывания выбирают из группы, состоящей из K21, R28, Q115, R117, E118, Q120, T132, K133, N134, Q135, S137, K143, E153, E155, S156, G158, Y164, K165, T166, D172, S173, D174, S176, K182, L183, T184, V185, K187, S188, Q191, Q192, G193, V195, F196, S199, Q211, S213, S215, L216, S217, P218, G219 и K220, со ссылкой на SEQ ID NO: 1.
- 182. Способ по любому из пп. 179-181, отличающийся тем, что мишенью является трансферриновый рецептор.



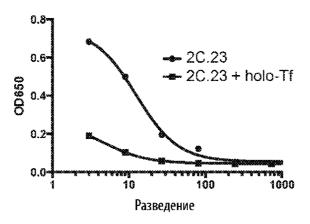
2/66 **Фиг. 2A**



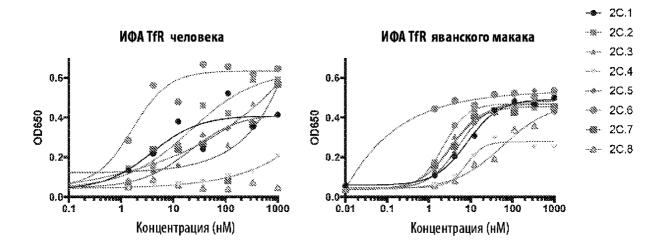
Фиг. 2В



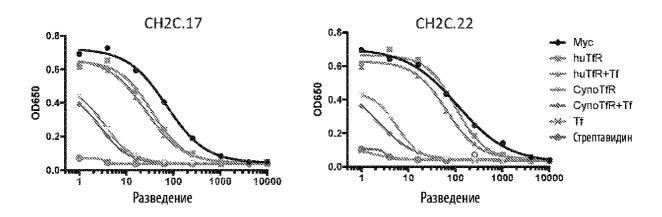
Фиг. 3А



Фиг. 3В



Фиг. 3С



Фиг. 3D

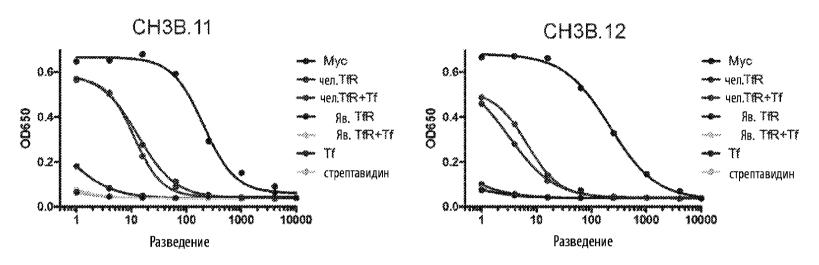
100

200

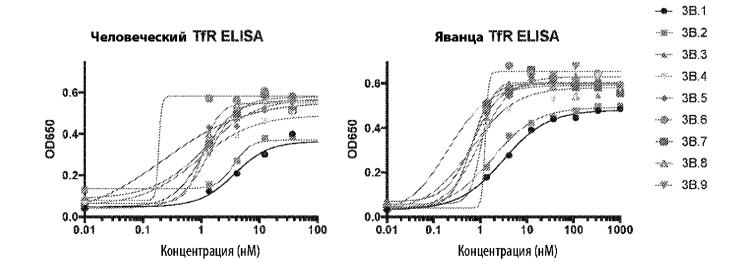
Время (с)

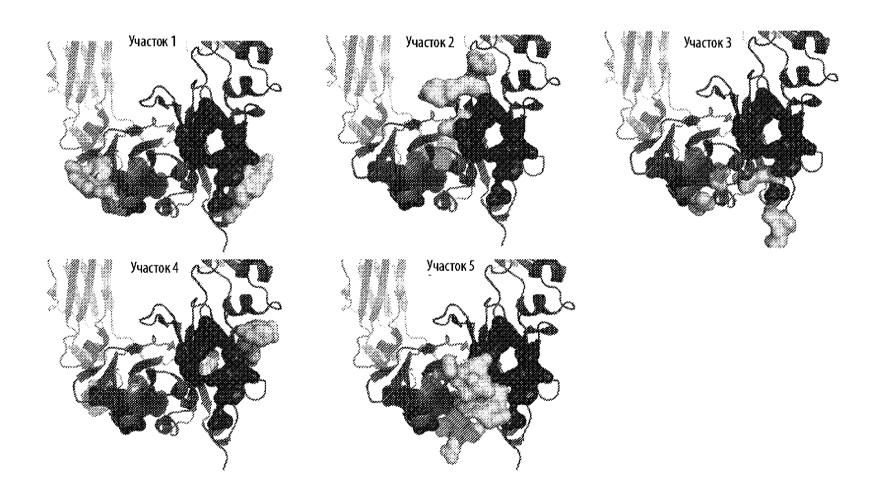
300

Фиг. 4А

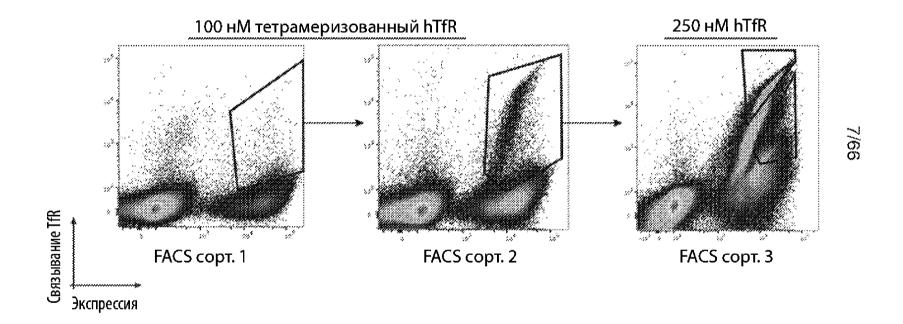


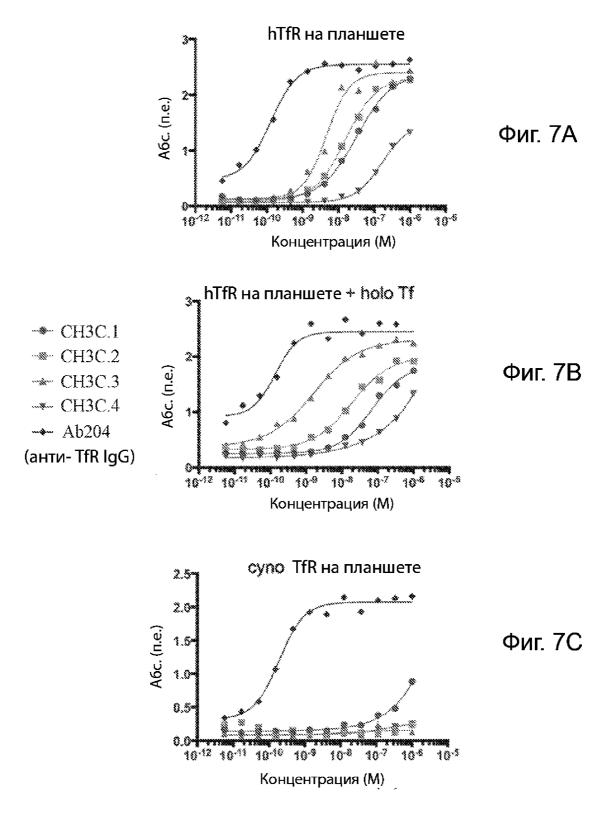
Фиг. 4В

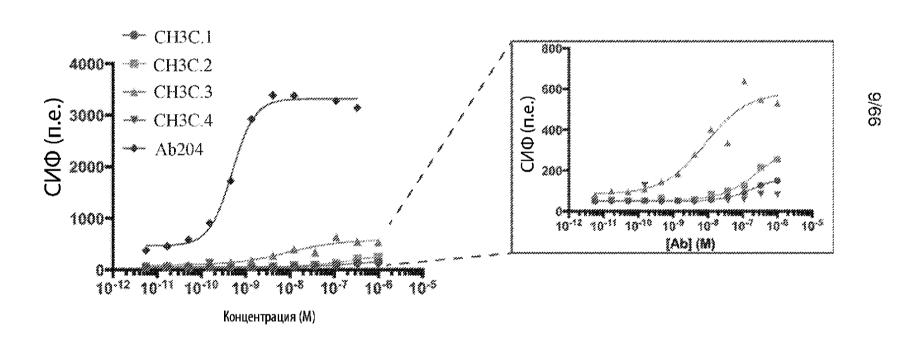


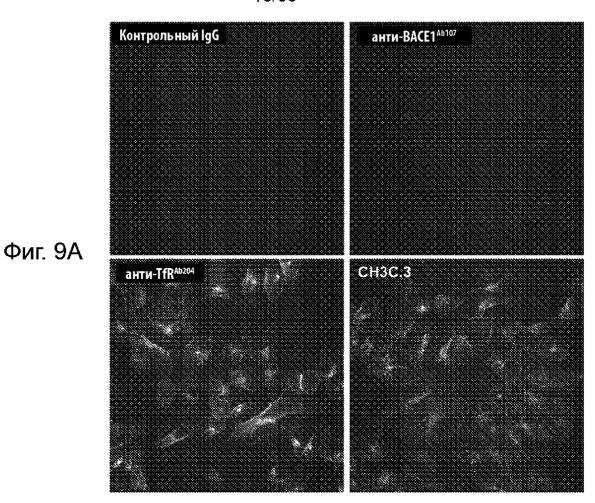


6/66

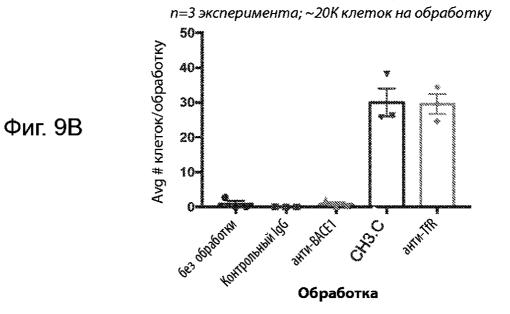




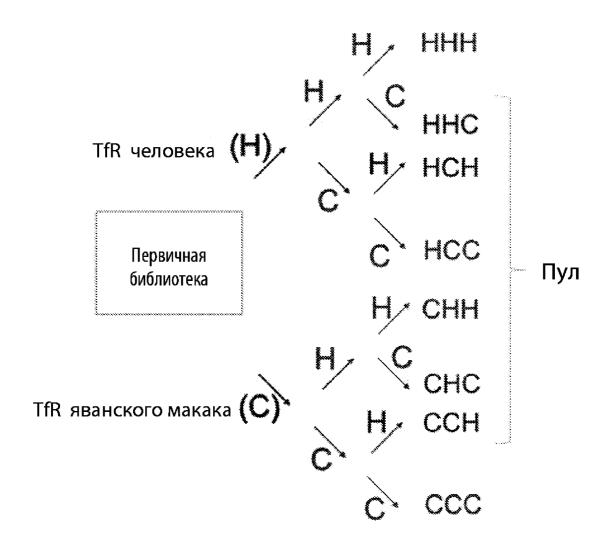




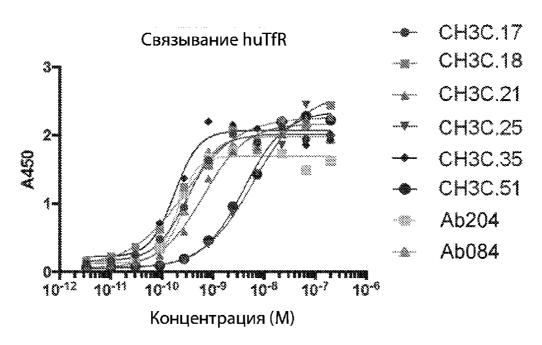
Кол-во точек IgG на клетку



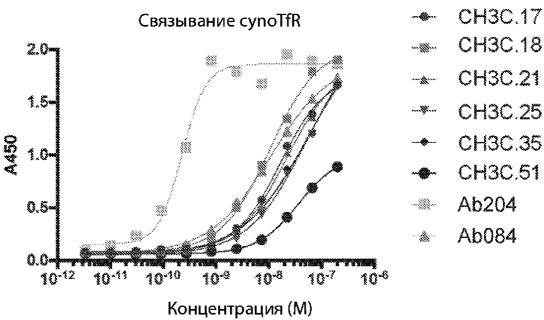
Фиг. 10



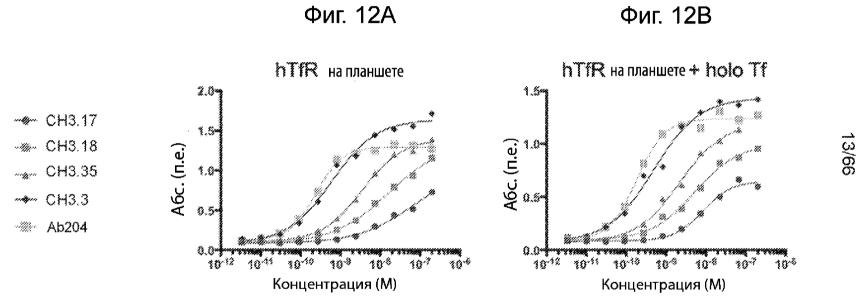
12/66 **Фиг. 11A**



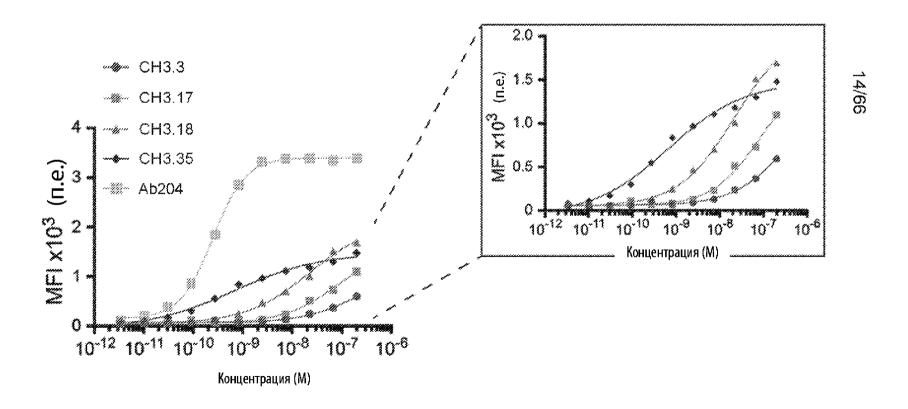
Фиг. 11В

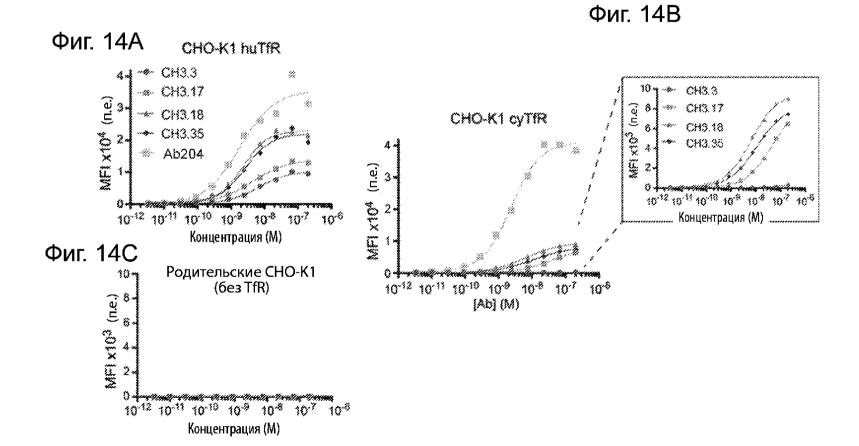




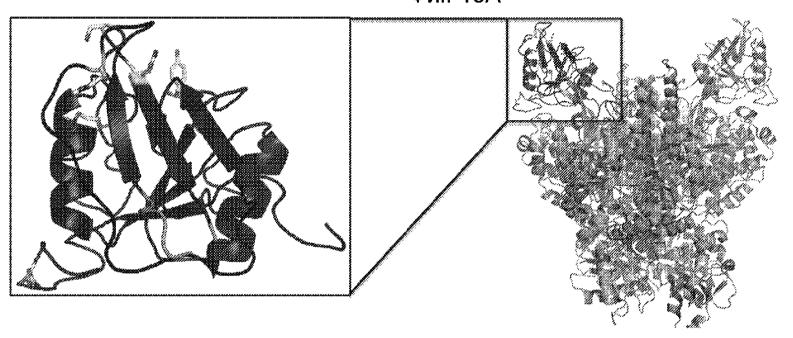


Фиг. 13





Фиг. 15А

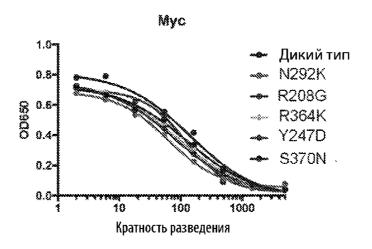


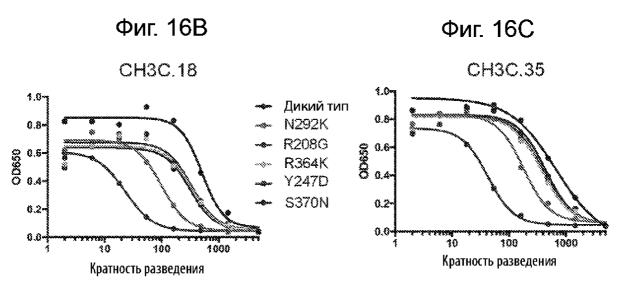
Фиг. 15В

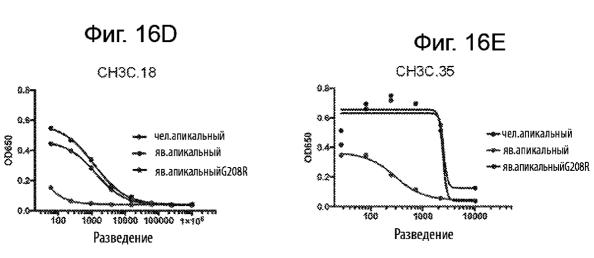
	1	10	20	36	40	50	60	70	88)	90	100	110	120	130
Яванский макак	ńsvity) Ksvity)	RMGRI,VYL RMGRI,VYL	yemposyyn Yemposyyn	YSKORTVIGKL YSKORTVIGKI,	Albaha Plikki Albaha Plikki	øem vipyk Øem dspyk	KSIVI VRAS KI KSIVIVRASKI KSIVIVRASKI	TFREKYNNON TFREKYRNIN	estratovit Estratovit	YHDQIKFPIY YHDQIKFPIY	Were List from Kroolist from	uu staipyte uu staipyte	rsepsementoe rsepsementoe	PPSRSS PPSUSS
	131	149	150	160	170	181								
Человек Яванский макак Консенсус	GLPHIPV GLPHIPV	OTISAMA OTISAMA	EKLFONNEG EKLFONNEG	OCPSONKTUST OCPSONKTUST OCPSONKTUST	CKMYTSESKI CKMYTSEKKS	rvki TVS TVKI TVS								

17/66

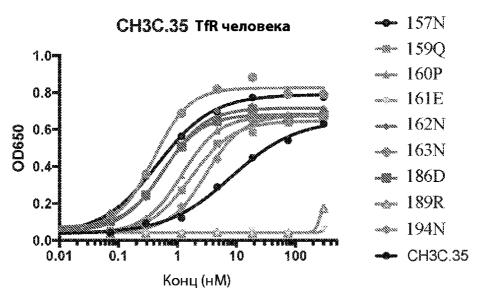
Фиг. 16А



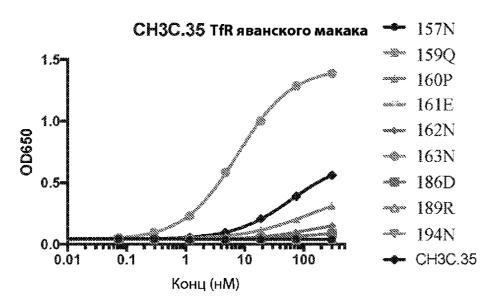




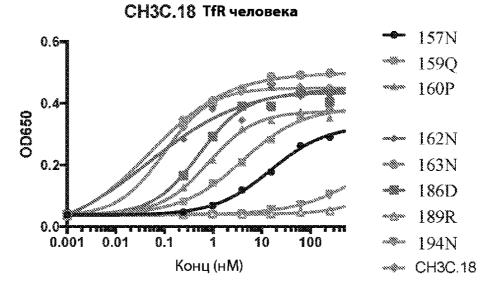
18/66 **Фиг. 17A**

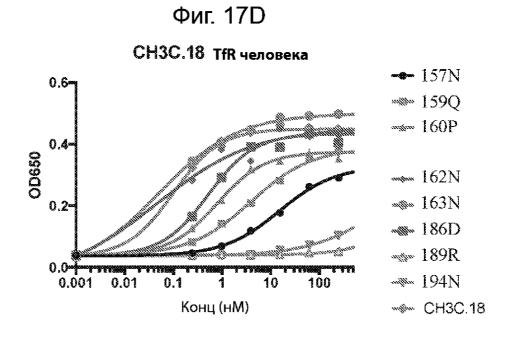


Фиг. 17В



19/66 **Фиг. 17С**





20/66

Фиг. 18А

Консенсус1-35

Дикий тип	£	₩	8.	Ş	N	G	Q	ş	8	N	80	٧	×	 ٧	p	ĸ	\$ Ŗ	W	Ω	Q	G	N
Клон 3					¥		7	8	W	ŝ	Q				£		8					H
1-35					4		1	£	W	5	S	1			*		£					F
1-44					Ä		7	٤	₩	5	₹ ŧ				5		٤					ķ
					-						1		e S	 }								
Библиотека 3.1	<u>.</u>							۴.	W				8		×	8						X

Фиг. 18В

Консенсус1-18

Дикий тип	£	W	£	S	N	G	Ω	p	8	N	٨		Y	8,		¥	Ω.	<u>)</u>	×	Ş	8	W	Q	Q	6	N
Клон 4					1.	Š	٠ ٤	٧	W	٧	C		Ÿ				À				1					W
1-21					į		L	٧	W	٧	C						p		200		1					W
1-18				-	Ł	1	14	٧	W	A	V	}					32				T					W
1-25					M	1	14	٧	W	٧	G						۵	3			ĩ			į		W
3-34					Ł		Ł	٧	ŝ	٧	ş		S				P		200		3					W
1-51					Ł		þξ	٧	W	V	ŧ						S				ε					W
						-	Į.												2		3					
Библиотека 3.2								13	W								8.4	8				Š				W.S
									Ġ								X.5	0	2000		200					F:2:
																					1					H:25
															de transfera				9		Š					¥:25
t mentioned an extraor times benefit and traority value						-														at an extra con-	3					(1):2

Фиг. 18С

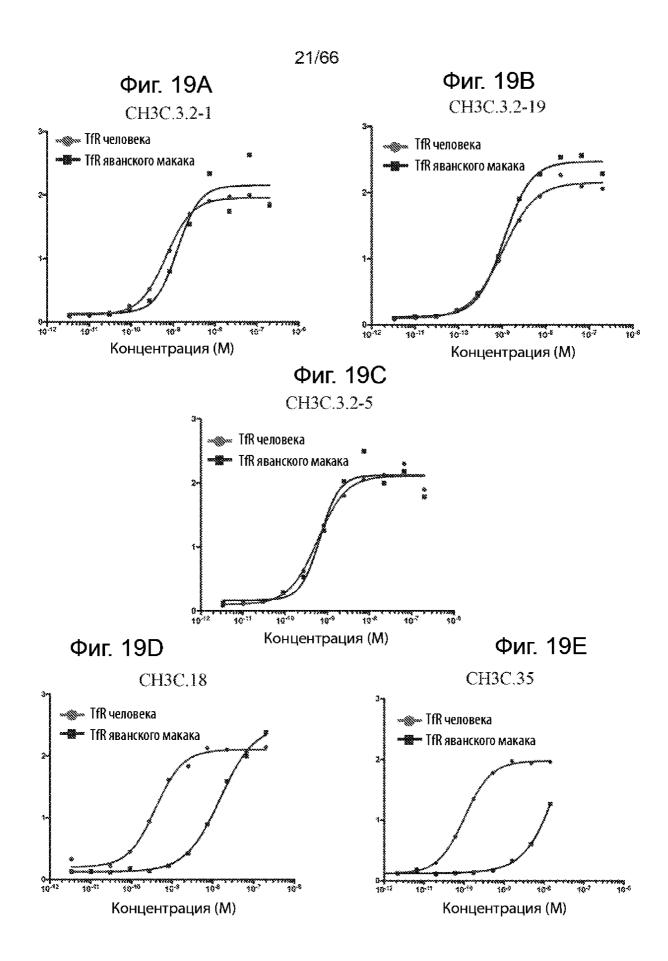
Гэп

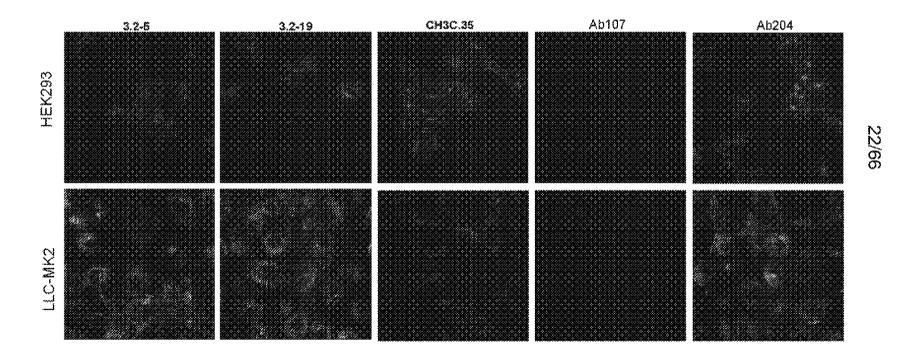
Дикий тип	ŧ.	₩	ŧ	3	Ŋ	G	Ω	ø	£		₹ :	V	ķ	ĸ	¥	ø	X	. \$	ş	35	/ Q	Q	G	N
WT	x	₩	х		84	Ģ	Q	ø	£		¥ :	N	×			ø		X	}			×	5	N
1-18 GAP	×		X		L	0	ч	٧	84	,	8	٧	*			ø		×				×		W
1-36 GAP	х		×		L		٤	٧	G		j	•	×			4		X				x		W
1-35 GAP	X		×		¥		1	£	W	, ,	ŝ	S	×			Υ		×	ş			×		٤

Фиг. 18D

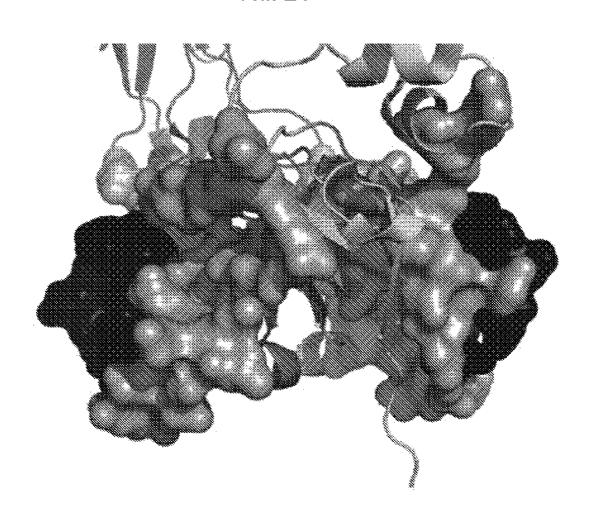
Ароматическая

Цикий тип	£	W	Ě	S	N	G	Q	Þ	€	N	Я	y	X	У	ø	K	\$	R	W	Q	Q	G	34
i-18					٤		Ħ	٧	W	Á	٧				ស្			7	1				W
		ļ.,,,) } }	6 8 							<u> </u>) } &											
иблиотека 3.4								٧	W						ø			***					₩:
		l		} }																			F:2
																			į.				14.2
											6	1											Y:2
				8							§						:	-					EL):

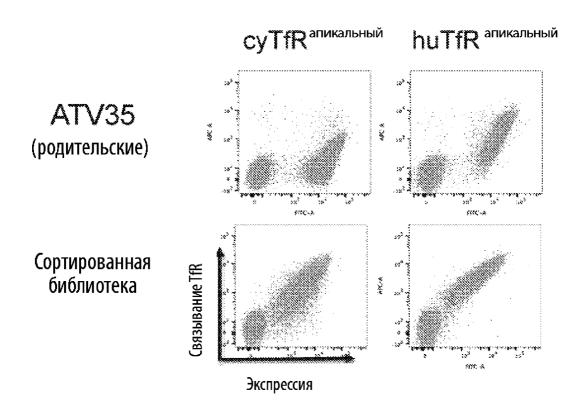




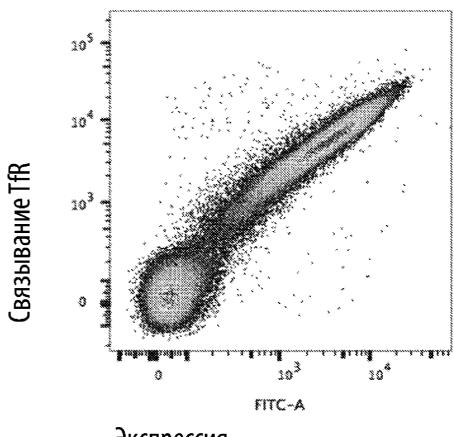
Фиг. 21



Фиг. 22



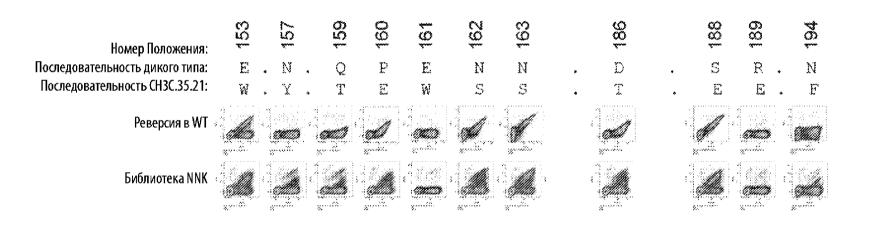
Фиг. 23А



Экспрессия

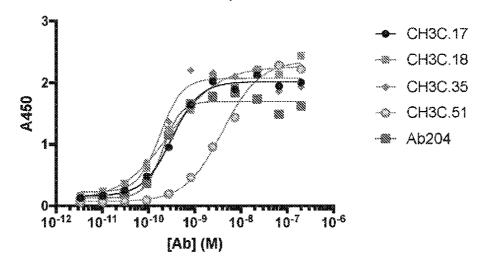
26/66

Фиг. 23В



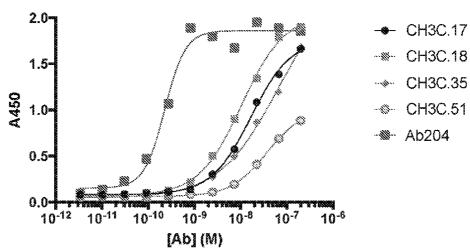
27/66

Фиг. 24A huTfR **ИФА** двухвалентный

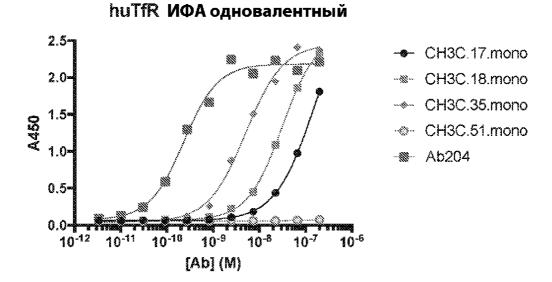


Фиг. 24В

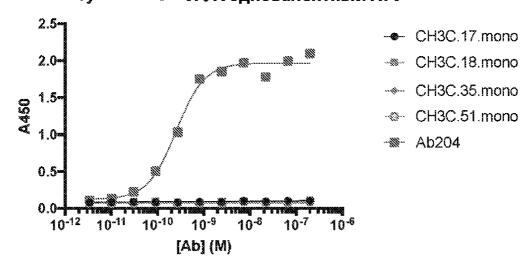
cyTfR ИФА двухвалентный



28/66 **Фиг. 24С**



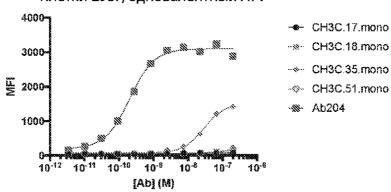
Фиг. 24D cyTfR ELISA ИФА одновалентный ATV



29/66

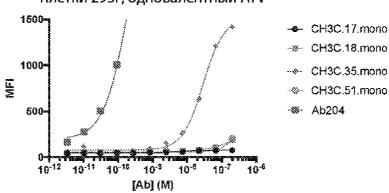
Фиг. 25А





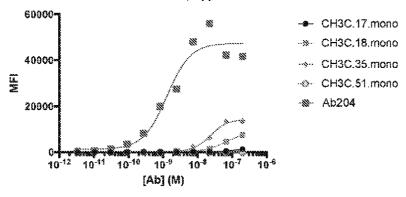
Фиг. 25В

Клетки 293F, одновалентный ATV



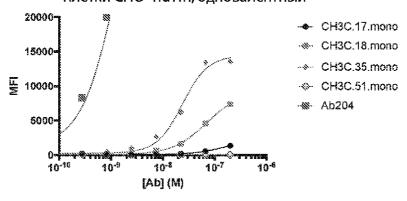
Фиг. 25С

Клетки CHO- huTfR, одновалентный



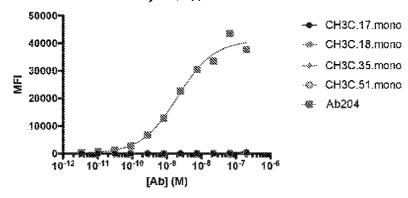
Фиг. 25D

Клетки CHO- huTfR, одновалентный

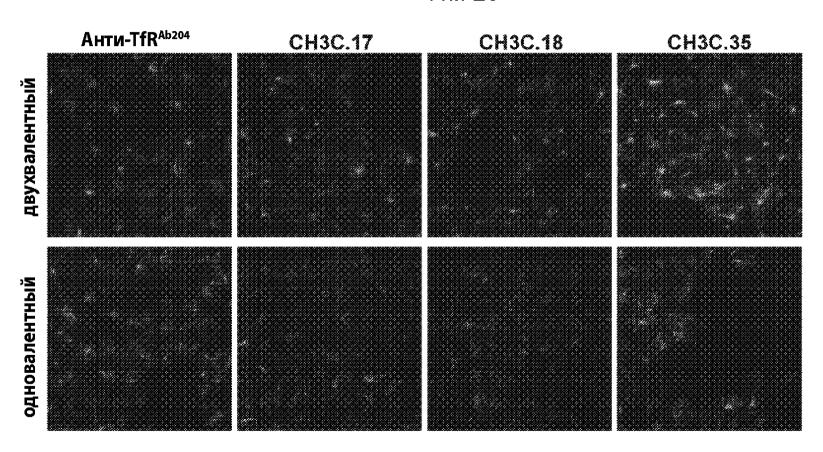


Фиг. 25Е

Клетки CHO- cyTfR, одновалентный ATV

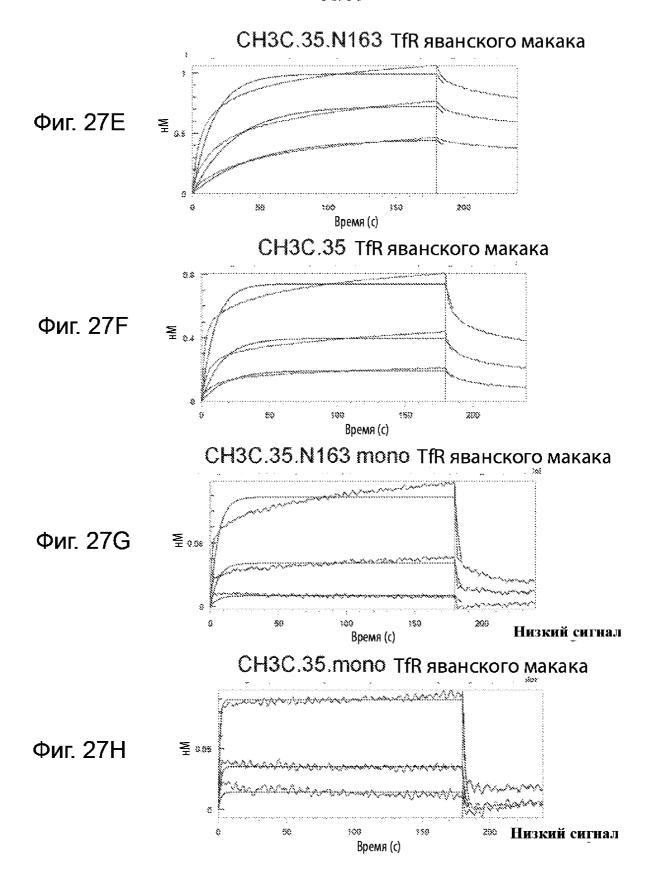


Фиг. 26

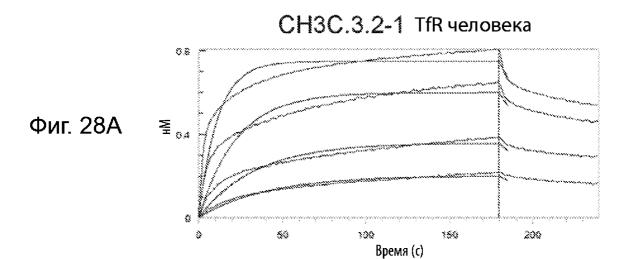


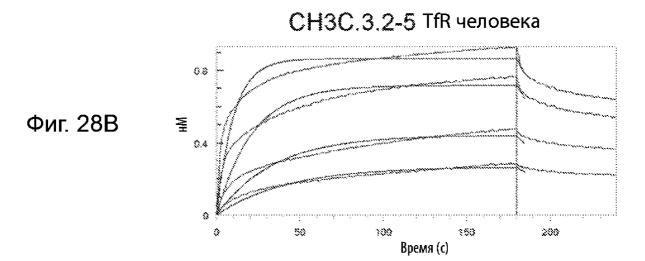
32/66 CH3C.35.N163 TfR человека Фиг. 27А ₹ Время (с) CH3C.35 TfR человека Фиг. 27В 둋 Время (с) CH3C.35.N163.mono TfR человека ¥ 8.8 Фиг. 27С CH3C.35.mono TfR человека Фиг. 27D ¥ 8.8

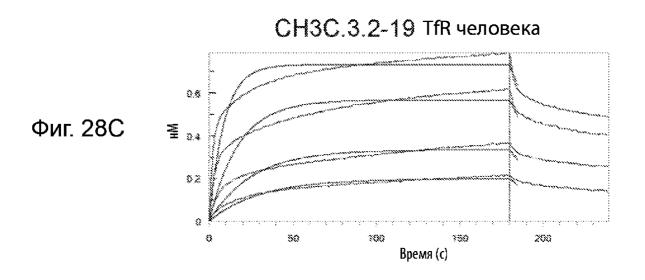
Время (с)

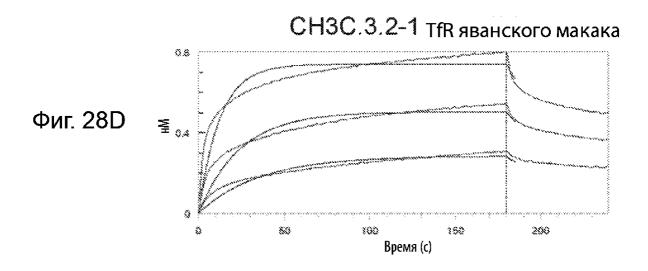


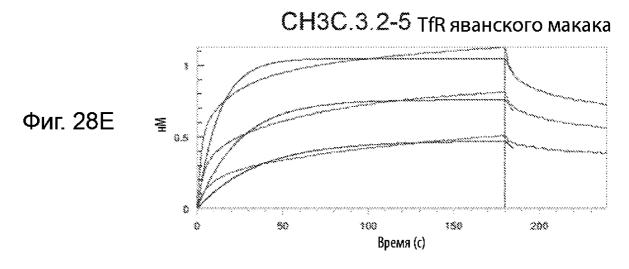
34/66

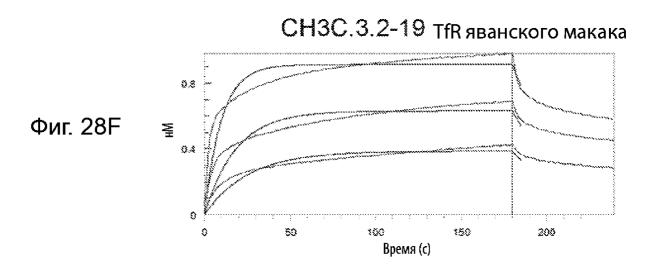






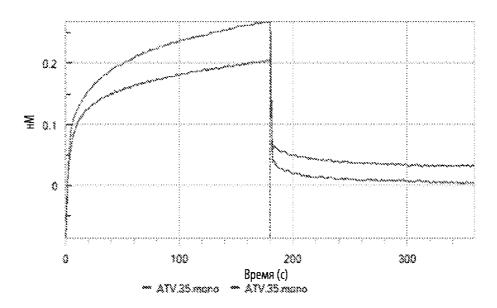




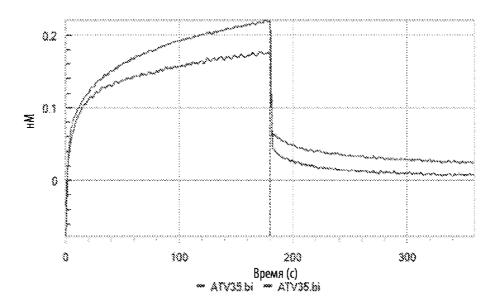


Фиг. 29А

CH3C.35.mono

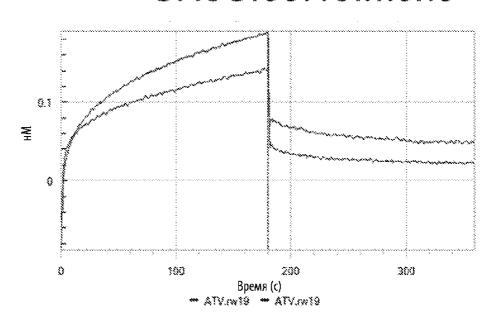


CH3C.35.bi

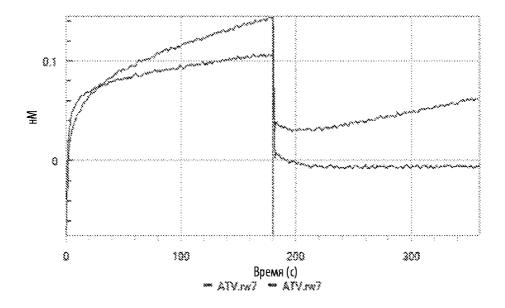


Фиг. 29В

CH3C.35.19.mono

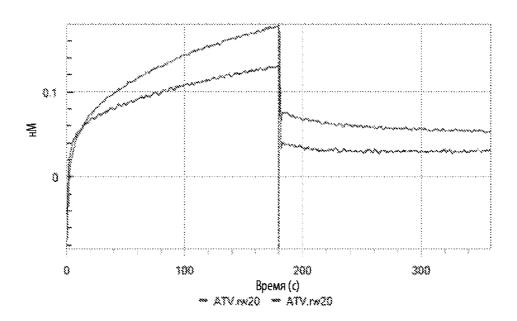


CH3C.35.19.bi

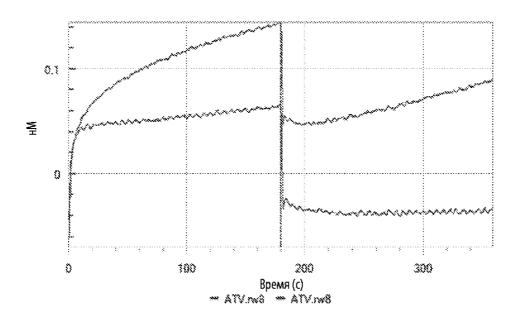


Фиг. 29С

CH3C.35.20.mono



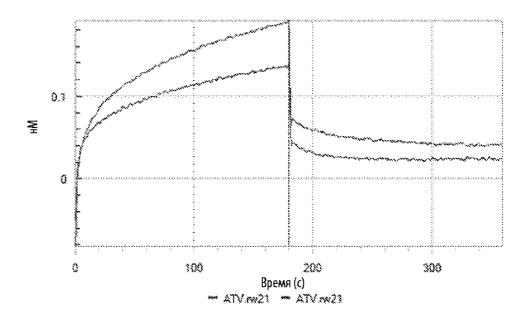
CH3C.35.20.bi



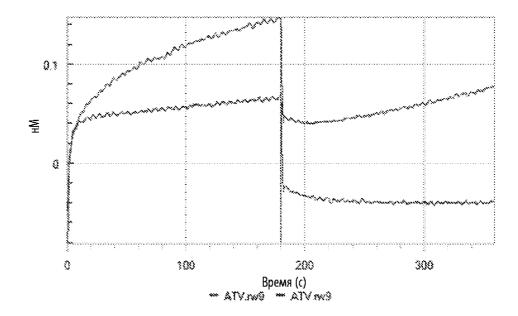
39/66

Фиг. 29D

CH3C.35.21.mono

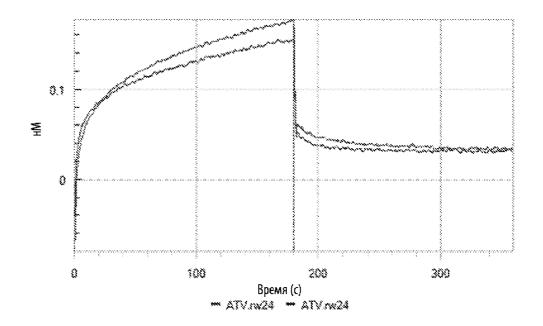


CH3C.35.21.bi

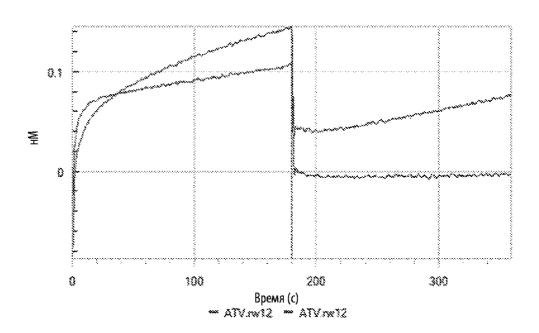


40/66

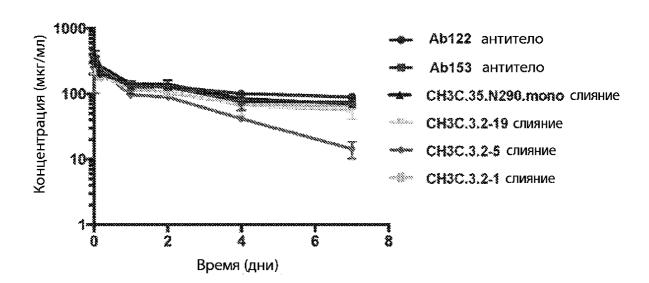
Фиг. 29E CH3C.35.24.mono



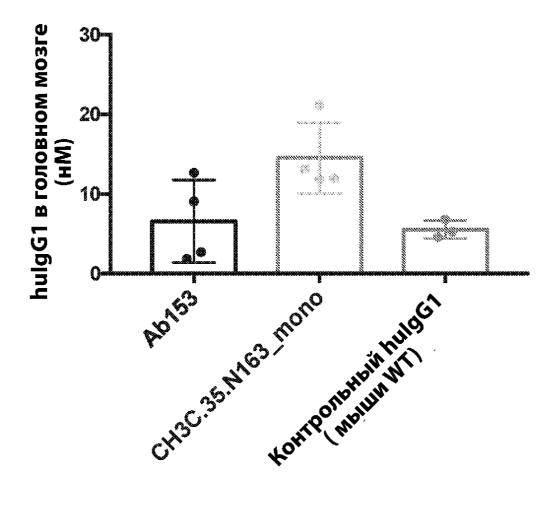
CH3C.35.24.bi



Фиг. 30



Фиг. 31

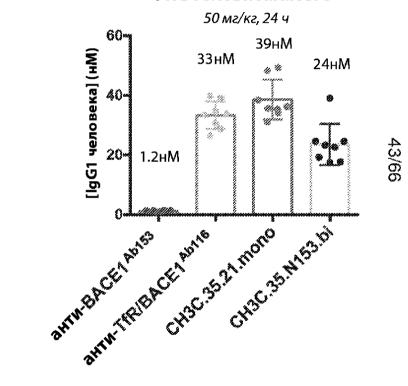


ФК в плазме 50 мг/кг, 24 ч [lgG1 человека] (нМ) arth. ERCE Rules CH3C.35.21 Horto CH3C.35.MISA.tri

Фиг. 32А

Фиг. 32В

ФК в головном мозге



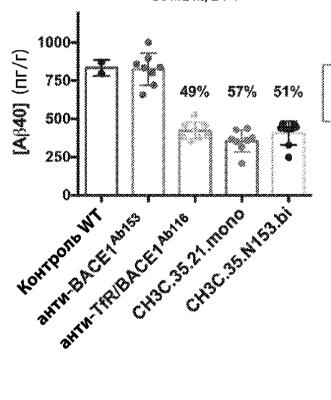
ФК в плазме 50 мг/кг, 24 ч 80-[A640] (nr/r) CH3C.353.N.153.td Incho altin-fillipacte atine arth EACE Anto Kontponbar

Фиг. 33А

Фиг. 33В

ФК в головном мозге

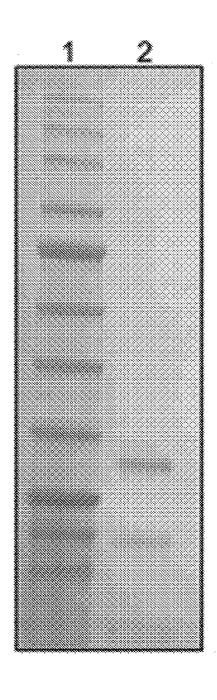
50 мг/кг, 24 ч



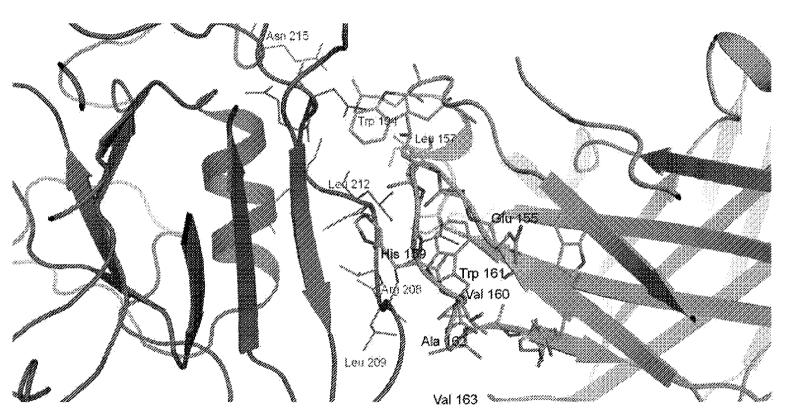
% снижения Аβ40 по сравнению с анти-ВАСЕ1^{Ab153}

44/66

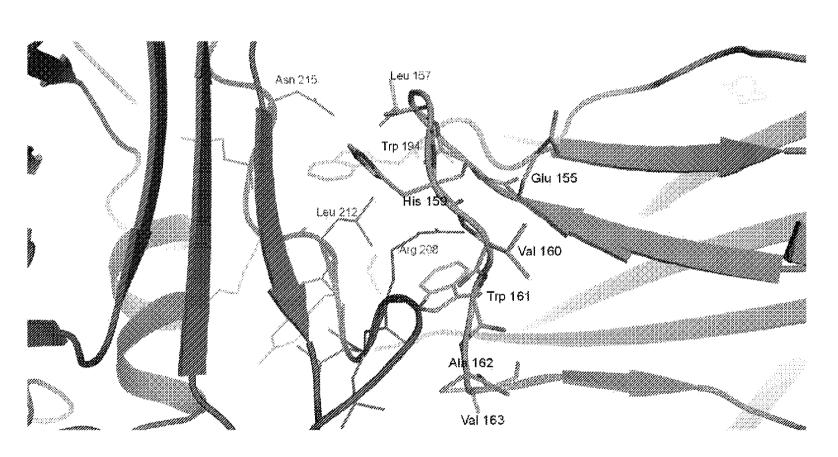
Фиг. 34



Фиг. 35А



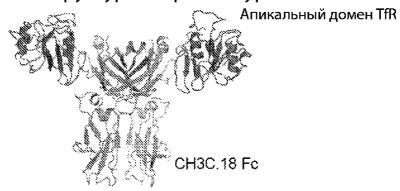
Фиг. 35В

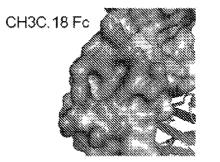


48/66

Фиг. 36А

Структурная архитектура

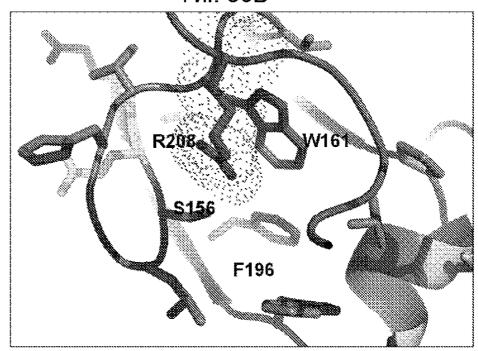






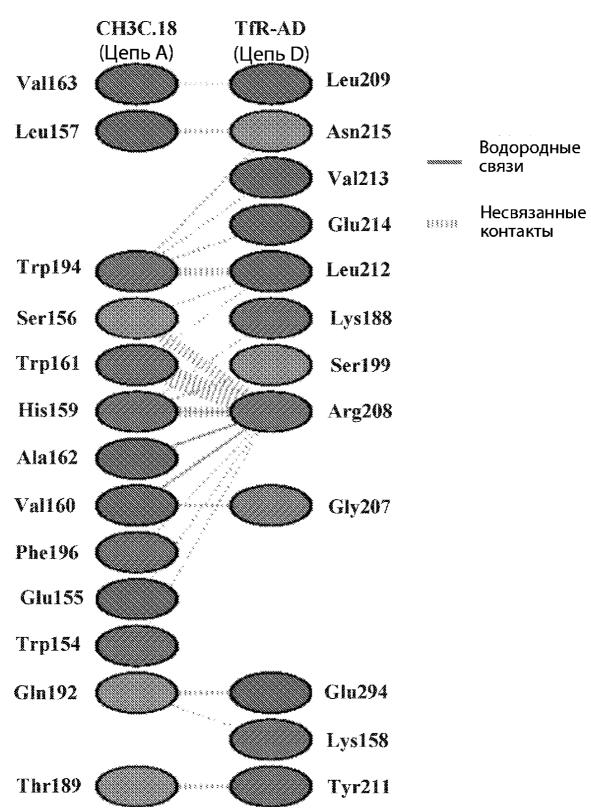
Поверхность связывния (в пределах 5 ангстрем)

Фиг. 36В



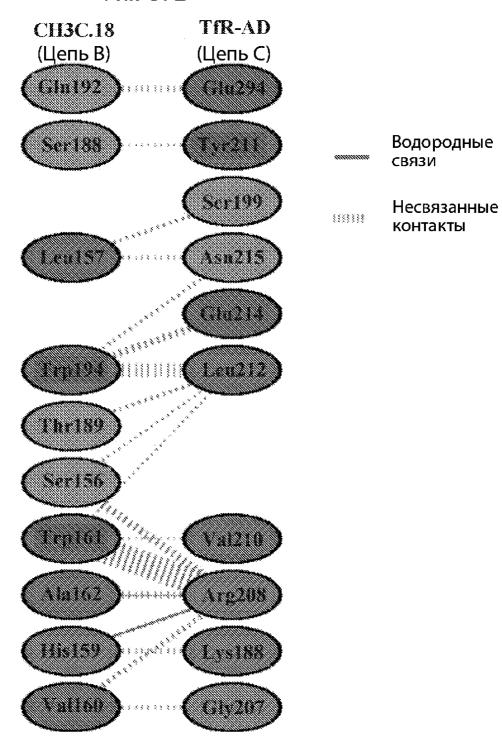
49/66

Фиг. 37А



50/66

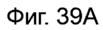
Фиг. 37В

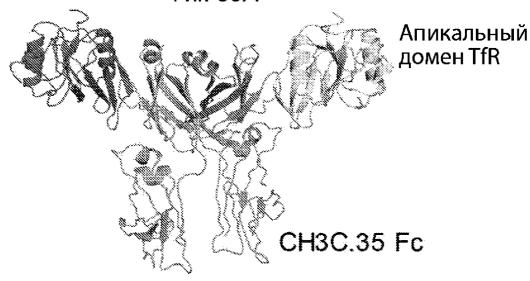


Фиг. 38

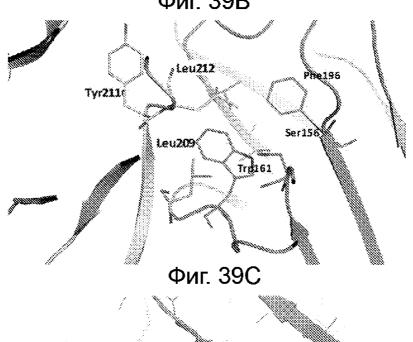
201857	IGEG1_HUMAN	1	astkgpsvpplapssketsggtaalgclvkdyppepvtvswnsgaltsgvhtppavloss	60
201859	ICHG2 HUMAN	ï	ASTKCPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWRSGALTSGVHTFPAVLÖSS	60
	igeg3 human	î	astkopsveplapcspeteggtaalgclvkdyfpepvtvewbegalitegvetppavlöss	60
	IGEG4 BUMAN	î	astkopsvyplapcskotsestaaloclvkovypepvtvswesgalitsovetppavlöss	60
		•	******************	~ ~
			* * 7	
201867	IGHG1_HUMAN	61	GLYSLSSVYTVPSSSLGTQTYICNVNERPSNTKVDXXVE	99
	ICHG2 HUMAN	61	GLYSLSSVVTVPSSHPCTQTYTCHVDHXPSHTXVDXTVEXX	101
	IGHG3 HUMAN	61	OLYSILSSVYTVPSSSILGIÖTYTCHVNRKPSRTKVDKRVELKTPLGDTTRTCPRCPEPKSC	120
	IGEG4_HUMAN	81	GLYSLSSVVTVP588LGTXTYTCNVDHXP3BTXVDXXVZ8X	101
× « × « » »	2.0002.00.2	₩.	****************************	202
081887	IGEG1 HUMAN	100	PRSCDRTRTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPXDT	133
	icec2 [—] human	ĩož	CCVECPPCPAPYV-ACPSVVLFPPKPKOC	129
201860	****	121	DTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLOGPSVPLPPPKPKDT	180
201861	ICHG4 HUMAN	102	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	130
x w & w w &	*A1103 T191,1104	2.866	** ***	205
			* *	
********	ichgi_human	134	IMISKTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAXTKPREKGYNSTYRVVSVLTVLH	193
001880	igeg2_human	îšô	INISATPRVICVVVOVSHEOPEVORVANIVOZVEVENANTRPREČJENSTFRVVSVLTVVH	189
201860		îěí	ikiSktprvtCvvvdvshedpev o fkwyvdcveven a xtxbkeeOykstfkvvsvi.tvlh	240
	ICHC4 HUMAN	îšî	IMISRTPEVTCVVVDVSOEDPEVÖRNMYVOGVEVHNAXTKPREEÖFRSTYRVVSVLTVLH	190
*******	***************************************	***	***************************************	3,74
201857	ICEG1 HUMAN	194	ODMINGRBYKCKVSNRALDADIERTISKARGOPREDOVYTIDDSROELTKNOVSLTCLVK	253
	ighg2 [™] human	190	ÔDNINGKBYKCKVSNAGIÐAÐIÐKTISKTKGÓÐRÐÐÖVYTIÐÐSRÐÐVIKNÖVSIÆCIVK	249
	icegi <u></u> human	241	Odvlnokeykokvsnualpapiektisktukoppeepovytlppskeehtukovslitolvk	300
	IGRG4 HUMAN	191	ODWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIERTISKAKGOPKEPOVYTLPPSQEEHTKNOVSL/ICLVK	230
* * * * * * * *	St. Act. St. S. W. St. St. St. St. St. St. St. St. St. St	<i>m4 n</i>	*****************	****
201857	IGEGI_HUMAN	254	GFYPSDIAVEWESNOOPERNYRTTPPVLDSDGSFFLYSXLTVDKSWWQQGNVFSCSVMHE	313
201859		250	GPYPSDISVEWESNGOPENNYKTTPPMLDSDGSPFLYSKLTVDKSRWOOGNVPSCSVMHE	309
F01860	MA-	301	GPYPŠDIAVEWĖGEGÕPENNYNTTPPMLDŠDOSFFLYSKLTVDKSRWÕÕGNIFSCŠVMUE	360
P01861	244	251	GPYPŠDIAVEWESNGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK8RWOEGNVFSCŠVMHE	310
		~~~	***************************************	***
201857	IGHGI HUMAN	314	ALEMEYTOXSLSLSPGX	330
	igegz <u>"</u> human	310	ALENHYTÕKSLSLSPCK	326
	igeg3 human	361	ALENRYTÖKSLSEGK	377
	iceg4 <u>"</u> human	311	ALMNHYTÖKSLSLGK	327
		-, -, -,	******	-7 1

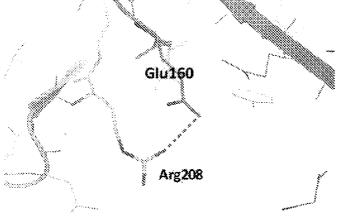
52/66



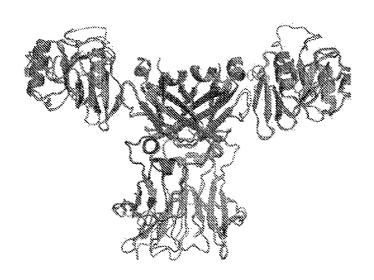


Фиг. 39В

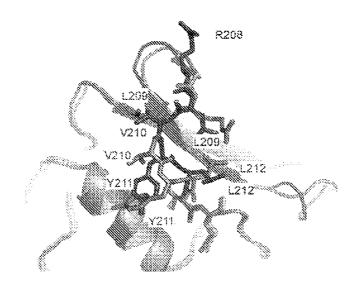


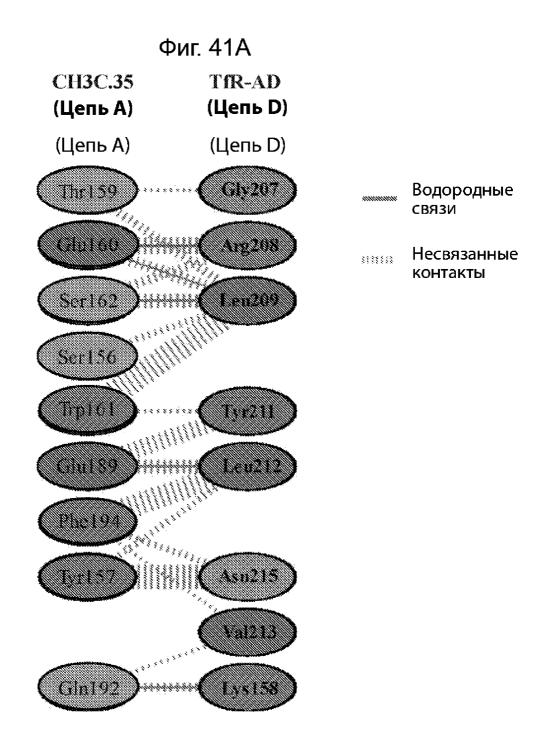


## Фиг. 40А



Фиг. 40В





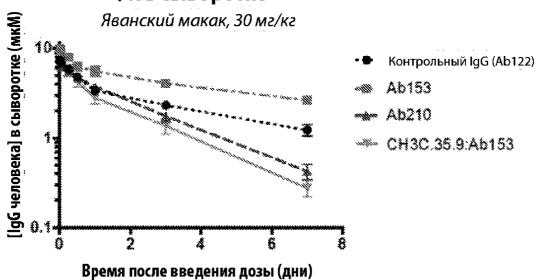
Фиг. 41В TfR-AD CH3C.35 (Цепь С) (Цепь В) : (Цепь В) (Цепь С) Thr 159 Lys 188 Водородные связи Ghile0 Arg208 Несвязанные 888333 контакты Ser162 Leu209 Serl56 Gln192 Lys158 Ser199 Tyr I 5.7 Phe194 Asn215 Phc 196 Irp161 Glu189 Leu212

Tyr211

56/66

Фиг. 42А

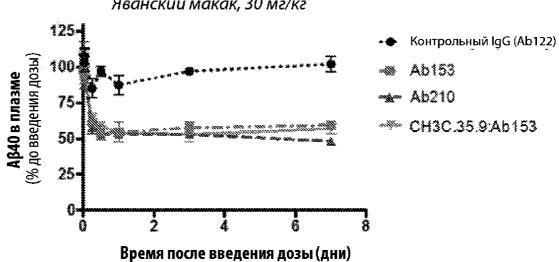




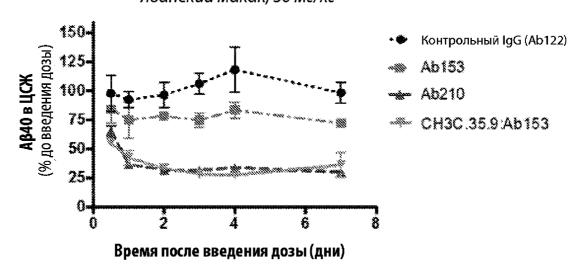
Фиг. 42В

### Снижение АВ в плазме

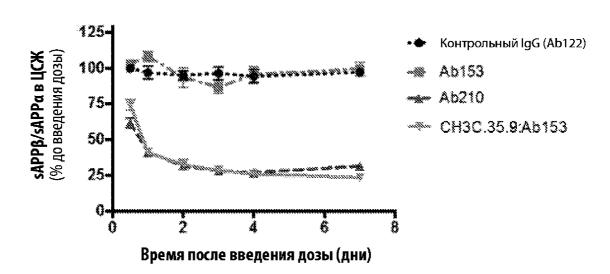
Яванский макак, 30 мг/кг



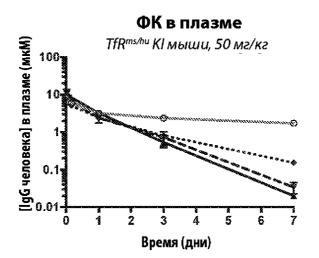
Фиг. 43А **Снижение Аβ в ЦСЖ** Яванский макак, 30 мг/кг



Фиг. 43В **Снижение sAPPβ/sAPPα в ЦСЖ** *Яванский макак, 30 мг/кг* 



Фиг. 44А



#### ∾9∾ Ab153

- ← CH3C.35.21:Ab153
- CH3C.35.20:Ab153
- ← CH3C,35:Ab153

Фиг. 44B

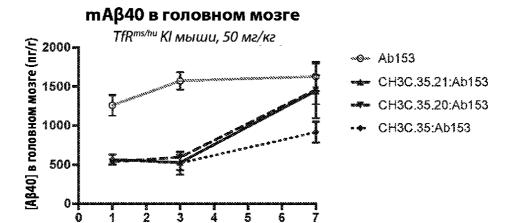
ФК в головном мозге

ТfR^{ms/hu} KI мыши, 50 мг/кг

— СH3C.35.21:Ab153
— CH3C.35.20:Ab153
— CH3C.35:Ab153
— CH3C.35:Ab153

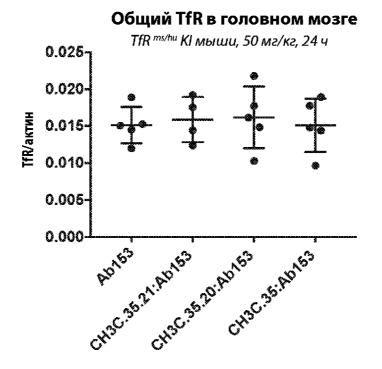
59/66

Фиг. 44С



Фиг. 44D

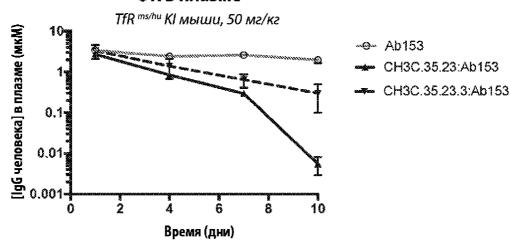
Время (дни)



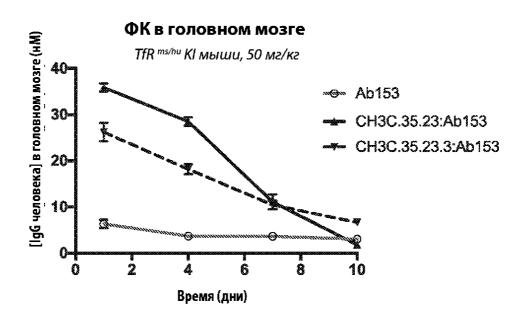
60/66

Фиг. 45А





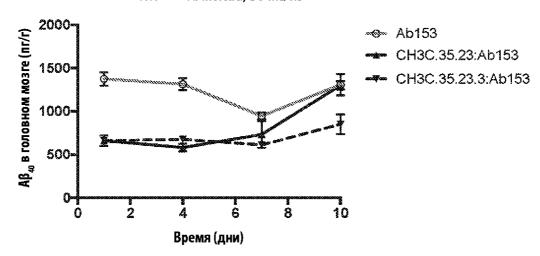
Фиг. 45В



Фиг. 45С

### Аβ в головном мозге

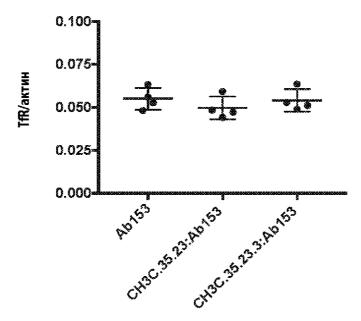
TfR hu/ms KI мыши, 50 мг/кг



Фиг. 45D

#### TfR в головном мозге

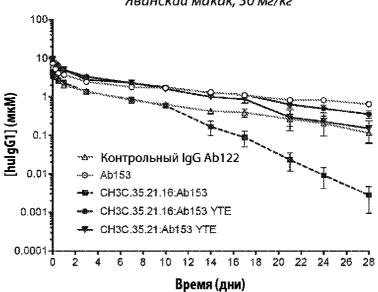
TfR ^{ms/hu} KI мыши, 50 мг/кг, 24 ч



Фиг. 46А

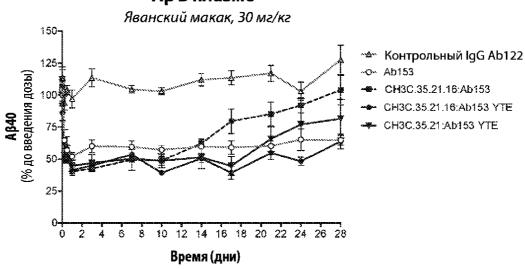
### ФК в сыворотке

Яванский макак, 30 мг/кг



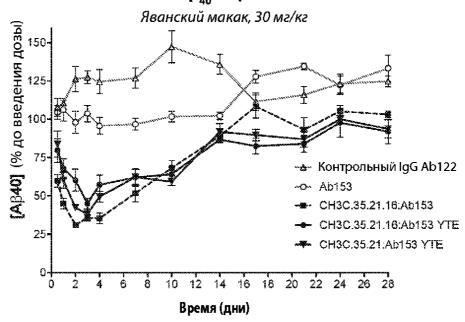
## Фиг. 46В

### Аβ в плазме



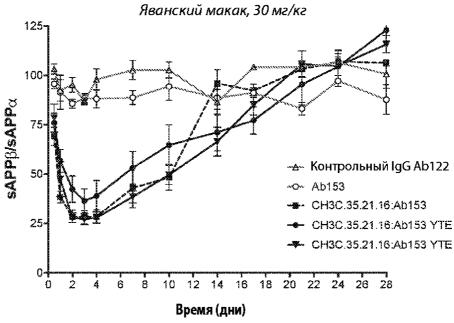
Фиг. 46С

## **А**β₄₀ в ЦСЖ

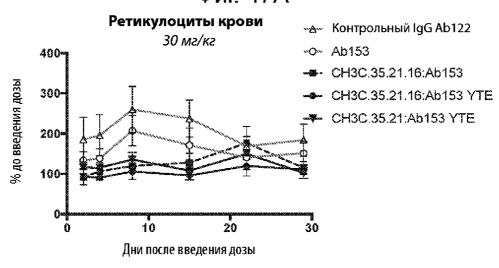


Фиг. 46D

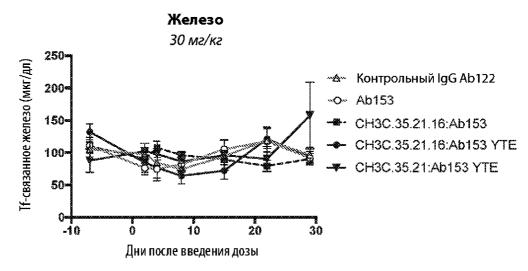
### sAPPβ/sAPPα в ЦСЖ



64/66 **Фиг. 47A** 



Фиг. 47В

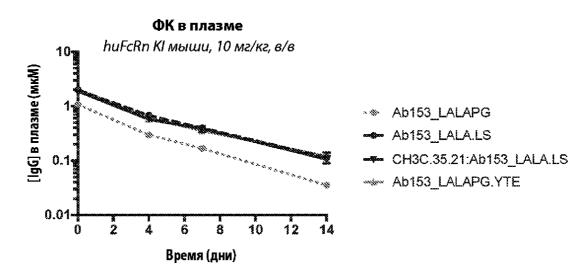


Фиг. 47С



### 65/66

Фиг. 48А



Фиг. 48В

Клон	Клиренс (мл/кг/сут)
Ab153_LALAPG	17.9
Ab153_LALA LS	8.1
CH3C:35:21:Ab153_LALA.LS	9.0
Ab153_LALAPG.YTE	8.4

Фиг. 49

