

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992181 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.03.02

(51) Int. Cl. C07K 14/74 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.03.14

(54) СПОСОБЫ МОДУЛИРОВАНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

(31) 62/471,832; 62/521,009

(32) 2017.03.15; 2017.06.16

(33) US

(86) PCT/US2018/022492

(87) WO 2018/170168 2018.09.20

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

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

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

(57) В настоящем раскрытии представлены способы модулирования иммунного ответа у индивидуума. В настоящем раскрытии представлены способы лечения. Настоящее раскрытие обеспечивает способы, включающие введение индивидууму мультимерного полипептида (synTas) и ингибитора иммунной контрольной точки. Настоящее изобретение относится к способам, включающим введение мультимерного полипептида (synTas) индивидууму, который подвергается лечению ингибитором иммунной контрольной точки.

A1

201992181

201992181

A1

СПОСОБЫ МОДУЛИРОВАНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Перекрестная ссылка

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/471,832, поданной 15 марта 2017 г., и предварительной заявке на патент США № 62/521,009, поданной 16 июня 2017 г., данные заявки включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Введение

Адаптивный иммунный ответ включает взаимодействие рецептора Т-клеток (TCR), присутствующего на поверхности Т-клеток, с небольшим пептидным антигеном, нековалентно презентируемым на поверхности антигенпрезентирующей клетки (APC) главным комплексом гистосовместимости. (ГКГС; также упоминается у человека как комплекс человеческого лейкоцитарного антигена (HLA)). данное взаимодействие представляет собой механизм нацеливания иммунной системы и является необходимым молекулярным взаимодействием для модуляции Т-клеток (активации или ингибирования) и эффекторной функции. После эпитоп-специфического нацеливания на клетки-мишени, Т-клетки активируются посредством взаимодействия костимулирующих белков, обнаруженных на APC, с аналогами костимулирующих белков Т-клеток. Оба сигнала — связывание эпитопа с TCR и взаимодействие костимулирующих белков APC с костимулирующими белками Т-клеток — необходимы для управления специфичностью и активацией или ингибированием Т-клеток. TCR специфичен к данному эпитопу; однако костимулирующий белок не специфичен к эпитопу и вместо этого обычно экспрессируется на всех Т-клетках или в больших подгруппах Т-клеток.

Сущность изобретения

В настоящем раскрытии представлены способы модулирования иммунного ответа у индивидуума. В настоящем раскрытии представлены способы лечения. Настоящее раскрытие обеспечивает способы, включающие введение индивидууму мультимерного полипептида (synTac) и ингибитора иммунной контрольной точки. Настоящее изобретение относится к способам, включающим введение мультимерного полипептида (synTac) индивидууму, который подвергается лечению ингибитором иммунной контрольной точки.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1A–1D схематически изображены различные варианты осуществления модулирующего Т-клеточного мультимерного полипептида. В этих вариантах

осуществления дисульфидные связи образуются между полипептидами ГКГС (например, HLA), присутствующими в отдельных полипептидах.

На фиг. 2А–2Q представлены аминокислотные последовательности человеческого IL-2 дикого типа (фиг. 2А); и аминокислотные последовательности вариантных полипептидов IL-2 (фиг. 2В–2Q).

На фиг. 3А–3С представлены аминокислотные последовательности альфа-цепи рецептора IL-2 (фиг. 3А), бета-цепи (фиг. 3В) и гамма-цепи (фиг. 3С).

На фиг. 4А–4С представлены аминокислотные последовательности полипептидов Fc иммуноглобулина.

На фиг. 5А–5С представлены аминокислотные последовательности полипептидов тяжелой цепи лейкоцитарного антигена человека (HLA) класса I. Сигнальные последовательности подчеркнуты.

На фиг. 6 представлено выравнивание множества аминокислотных последовательностей предшественников бета-2-микроглобулина ($\beta 2M$) (т.е., включая лидерную последовательность) из *Homo sapiens* (NP_004039.1; SEQ ID NO: 95), *Pan troglodytes* (NP_001009066.1; SEQ ID NO : 195), *Macaca mulatta* (NP_001040602.1; SEQ ID NO: 96), *Bos taurus* (NP_776318.1; SEQ ID NO: 97) и *Mus musculus* (NP_033865.2; SEQ ID NO: 98). Аминокислоты 1–20 представляют собой сигнальный пептид.

На фиг. 7А–7В представлена выработка IL-2/synTас (Cue-IL-2-a и Cue-IL-2-b) по настоящему изобретению после временной трансфекции. На фиг. 7А представлен неочищенный выход, на фиг. 7В представлен очищенный продукт.

На фиг. 8А–8В представлена выработка IL-2/synTас по настоящему изобретению, в которой полипептид IL-2 присутствует в легкой цепи (полипептидная цепь с легкой цепью (например, $\beta 2M$) молекулы ГКГС класса I) или в тяжелой цепи (полипептидная цепь с тяжелой цепью молекулы ГКГС класса I).

На фиг. 9 показан уровень экспрессии IL-2/syn-Tас, в которых IL-2 относится к дикому типу (wt) или содержит различные комбинации F42A, D20K, Q126A, E15A, Y45A и H16A.

На фиг. 10 представлена экспрессия IL-2/synTас по настоящему раскрытию, в которой IL-2 присутствует в одной копии (1X), двух копиях (2X) или трех копиях (3X) в synTас.

На фиг. 11 представлена стимуляция *in vitro* антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток и неспецифических CD8⁺ Т-клеток с помощью IL-2/synTас по настоящему изобретению, где вариант IL-2, содержащий замены F42A и H16A, присутствует в synTас в двух копиях.

На фиг. 12 представлено связывание IL-2/synTас со специфическими (вирус

лимфоцитарного хориоменингита; LCMV) или неспецифическими (OT1; распознающие овальбумин) CD8⁺ Т-клетками.

На фиг. 13 представлена IL-2/synTас-опосредованную передачу сигналов в антигенспецифических (LCMV) или неспецифических (BL6) CD8⁺ Т-клетках.

На фиг. 14А–14F представлен процент фосфосигнального преобразователя и активатора транскрипционных 5 (pSTAT5)-положительных клеток после стимуляции CD8⁺ антигенспецифическими (LCMV) или неспецифическими (BL6) клетками с помощью IL-2/synTас по настоящему изобретению при различных концентрациях IL-2/synTас.

На фиг. 15 представлена активность *in vivo* IL-2/synTас по настоящему изобретению. На левой панели показано кратное изменение количества антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток после введения фосфатно-солевого буфера (ФСБ), рекомбинантного IL-2 (rIL-2) или IL-2/synTас по настоящему изобретению. Правая панель изображает антигенспецифические и неантигенспецифические ответы после введения ФСБ, rIL-2 или IL-2/synTас по настоящему изобретению.

На фиг. 16А–16В представлены эффекты увеличения дозы (фиг. 16А) и способа введения (фиг. 16В).

На фиг. 17А–17В представлено влияние количества копий IL-2 на эффективность *in vivo* против опухоли.

На фиг. 18 представлен период полувыведения из сыворотки IL-2/synTас по настоящему изобретению после внутрибрюшинного введения IL-2/synTас в количестве 10 мг/кг.

На фиг. 19 представлена стабильность IL-2/synTас по настоящему раскрытию спустя 2 часа после внутрибрюшинного введения IL-2/synTас в количестве 10 мг/кг.

На фиг. 20 представлены данные эксклюзионной хроматографии по размеру IL-2/synTас по настоящему изобретению после выдерживания IL-2/synTас при 4 °С или 37 °С в течение 5 дней.

На фиг. 21 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи IL-2/synTас по настоящему изобретению с лидерным пептидом, где тяжелая цепь IL-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменой N297A.

На фиг. 22 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи IL-2/synTас по настоящему изобретению без лидерного пептида, где тяжелая цепь IL-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменой N297A.

На фиг. 23А–23В представлена нуклеотидная последовательность (фиг. 23А), кодирующая тяжелую цепь IL-2/synTас, изображенную на фиг. 21; и ключ (фиг. 23В) к

последовательности.

На фиг. 24 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи IL-2/synTас с лидерным пептидом, где тяжелая цепь IL-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234A и L235A.

На фиг. 25 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи IL-2/synTас без лидерного пептида, где тяжелая цепь IL-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234A и L235A.

На фиг. 26А–26В представлена нуклеотидная последовательность (фиг. 26А), кодирующая тяжелую цепь IL-2/synTас, изображенную на фиг. 24; и ключ (фиг. 26В) к последовательности.

На фиг. 27 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи IL-2/synTас с лидерным пептидом, где тяжелая цепь IL-2/synTас содержит IgG1 Fc с заменами L234F, L235E и P331S.

На фиг. 28 представлена аминокислотная последовательность тяжелой цепи IL-2/synTас без лидерного пептида, где тяжелая цепь IL-2/synTас содержит Fc IgG1 с заменами L234F, L235E и P331S.

На фиг. 29А–29В представлена нуклеотидная последовательность (фиг. 29А), кодирующая тяжелую цепь IL-2/synTас, изображенную на фиг. 27; и ключ (фиг. 29В) к последовательности.

На фиг. 30 представлена аминокислотная последовательность легкой цепи IL-2/synTас с лидерным пептидом, где легкая цепь IL-2/synTас содержит эпитоп Е7 вируса папилломы человека (ВПЧ).

На фиг. 31 представлена аминокислотная последовательность легкой цепи IL-2/synTас без лидерного пептида, где легкая цепь IL-2/synTас содержит эпитоп Е7 ВПЧ.

На фиг. 32 представлена нуклеотидная последовательность, кодирующая легкую цепь IL-2/synTас, изображенную на фиг. 30.

На фиг. 33А–33D представлены аминокислотные последовательности Fc человеческого IgG1 дикого типа (фиг. 33А), Fc IgG1 с заменами L234F, L235E и P331S (фиг. 33В), Fc IgG1 с заменой N297A (фиг. 33С) и Fc IgG1 с заменами L234A и L235A (фиг. 33D).

На фиг. 34А–34С представлена аминокислотная последовательность полипептида β 2-микроглобулина (R12C) (фиг. 34А), вариант полипептида IL-2 (H16A; F42A) (фиг. 34В), и цепи ГКГС-Н класса I A0201 (Y84A; A236C) (фиг. 34С).

На фиг. 35 представлено синергетическое действие IL-2/synTас и антитела к PD1 на уменьшение объема опухоли.

На фиг. 36А–36III представлена аминокислотная последовательность 4-1BBL (фиг. 36А) и примеры вариантов полипептидов 4-1BBL (фиг. 36В–36III).

На фиг. 37 представлена аминокислотная последовательность 4-1BV.

На фиг. 38А–38В представлена секреция интерферона-гамма (IFN- γ) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 38А) или 5 дней (FIG. 8В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 39А–39В представлена секреция интерлейкина-2 (IL-2) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 39А) или 5 дней (FIG. 9В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 40А–40В представлена секреция интерлейкина-6 (IL-6) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 40А) или 5 дней (FIG. 40В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 41А–41В представлена секреция фактора некроза опухоли-альфа (TNF α) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 41А) или 5 дней (FIG. 41В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 42А–42В представлена секреция интерлейкина-10 (IL-10) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 42А) или 5 дней (FIG. 42В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 43А–43В представлена секреция интерлейкина-17А (IL-17А) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 43А) или 5 дней (FIG. 43В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 44А–44В представлена секреция интерлейкина-4 (IL-4) клетками-мишенями, контактирующими с полипептидом synTas в течение 3 дней (фиг. 44А) или 5 дней (FIG. 44В) в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия.

На фиг. 45 представлена пролиферация клеток-мишеней, контактирующих с полипептидом synTas, в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 46 представлена жизнеспособность клеток-мишеней, контактирующих с полипептидом synTas, в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 47 представлены уровни экспрессии различных полипептидов synTas, продуцируемых в клетках СНО.

На фиг. 48 представлен эффект *in vivo* полипептида synTas по настоящему изобретению на объем опухоли.

На фиг. 49 представлено влияние совместного введения различных доз 4-1BBL/synTас и антитела к PD1 на массу опухоли и процент гранзима В⁺ инфильтрующих опухоль лимфоцитов (TIL).

На фиг. 50А–50В представлены аминокислотные последовательности полипептидов PD-L1.

На фиг. 51 представлена аминокислотная последовательность полипептида CD80.

На фиг. 52 представлена аминокислотная последовательность полипептида ICOS-L.

На фиг. 53 представлена аминокислотная последовательность полипептида OX40L.

На фиг. 54 представлена аминокислотная последовательность полипептида PD-L2.

На фиг. 55 представлена аминокислотная последовательность полипептида CD86 (B7-2).

На фиг. 56 представлена аминокислотная последовательность полипептида Fas-лиганда (FAS-L).

Определения

Термины «полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота», взаимозаменяемо употребляемые в данном документе, относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, как рибонуклеотидов, так и дезоксирибонуклеотидов. Таким образом, этот термин включает в себя, но не ограничивается этим, одно-, двух- или многоцепочечную ДНК или РНК, геномную ДНК, кДНК, гибриды ДНК-РНК или полимер, содержащий пуриновые и пиримидиновые основания или другие природные, химически или биохимически модифицированные, неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания.

Термины «пептид», «полипептид» и «белок» взаимозаменяемо употребляются в данном документе и относятся к полимерной форме аминокислот любой длины, которая может включать в себя кодируемые и не-кодируемые аминокислоты, химически или биохимически модифицированные или дериватизированные аминокислоты и полипептиды с модифицированными пептидными остовами.

Полинуклеотид или полипептид обладает определенным процентом «идентичности последовательности» с другим полинуклеотидом или полипептидом, что означает, что при выравнивании этот процент оснований или аминокислот является одинаковым, и они находятся в одинаковых относительных позициях при сравнении двух последовательностей. Идентичность последовательностей можно определять рядом разных способов. Для определения идентичности последовательности, последовательности могут быть выровнены с использованием различных удобных способов и компьютерных программ (например, BLAST, T-COFFEE, MUSCLE, MAFFT и

т.д.), доступных во всемирной паутине на сайтах, включая ncbi.nlm.nih.gov/BLAST, ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/, ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/, mafft.cbrc.jp/alignment/software/. См., например, Altschul et al. (1990), J. Mol. Biol. 215:403-10.

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

Используемый в данном документе термин «связывание» (например, в отношении связывания мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетку, с полипептидом (например, рецептором Т-клетки) на Т-клетке) относится к нековалентному взаимодействию между ними. Связывающие взаимодействия обычно характеризуются константой диссоциации (K_D) менее $10^{-6}M$, менее $10^{-7}M$, менее $10^{-8}M$, менее $10^{-9}M$, менее $10^{-10}M$, менее чем $10^{-11}M$, менее чем $10^{-12}M$, менее чем $10^{-13}M$, менее чем $10^{-14}M$ или менее чем $10^{-15}M$. «Аффинность» относится к силе связывания, повышенная аффинность связывания коррелируется по более низкой K_D .

Используемый в данном документе термин «иммунологический синапс» или «иммунный синапс» обычно относится к естественному интерфейсу между двумя взаимодействующими иммунными клетками адаптивного иммунного ответа, включая, например, интерфейс между антигенпрезентирующей клеткой (APC) или клеткой-мишенью и эффекторной клеткой, например лимфоцитом, эффекторной Т-клеткой, естественной клеткой-киллером и тому подобное. Иммунологический синапс между APC и Т-клеткой обычно инициируется взаимодействием Т-клеточного рецептора распознавания антигена и молекул главного комплекса гистосовместимости, например, как описано в Bromley et al., Annu Rev Immunol. 2001;19:375-96; содержание которой в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки.

«Т-клетка» включает все типы иммунных клеток, экспрессирующих CD3, включая

Т-хелперные клетки ($CD4^+$ клетки), цитотоксические Т-клетки ($CD8^+$ клетки), Т-регуляторные клетки (Treg) и NK-Т клетки.

«Костимулирующий полипептид» (также называемый в данном документе «иммуномодулирующим полипептидом») в качестве используемого в данном документе термина включает полипептид на антигенпрезентирующей клетке (APC) (например, дендритной клетке, В-клетке и т.п.), который специфически связывает распознанный костимулирующий полипептид (также называемый здесь «распознанным иммуномодулирующим полипептидом») на Т-клетке, обеспечивая тем самым сигнал, который, в дополнение к первичному сигналу, обеспечиваемому, например, связыванием комплекса TCR/CD3 с полипептидом основного комплекса гистосовместимости (ГКГС), загруженным пептидом, опосредующим ответ Т-клеток, включая, но не ограничиваясь ими, пролиферацию, активацию, дифференцировку и тому подобное. Костимулирующий лиганд может включать, но не ограничивается ими, CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, лиганд Fas (FasL), индуцибельный костимулирующий лиганд (ICOS-L), молекула межклеточной адгезии (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептор лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, агонист или антитело, которое связывает толл-подобный рецептор с лигандом, который специфически связывается с B7-H3. Костимулирующий лиганд также включает, среди прочего, антитело, которое специфически связывается с костимулирующей молекулой, присутствующей в Т-клетке, такой как, но не ограничиваясь ими, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, связанный с функцией лимфоцитов (LFA-1), CD2, LIGHT, NKG2C, B7-H3 и лиганд, который специфически связывается с CD83.

«Модулирующий домен» («MOD») модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида включает костимулирующий полипептид, например полипептид IL-2, такой как вариант полипептида IL-2.

В контексте данного документа «гетерологичный» означает нуклеотид или полипептид, которые нельзя обнаружить в природной нуклеиновой кислоте или природном белке, соответственно.

В контексте данного документа термин «рекомбинантный» означает, что конкретная нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) является продуктом различных комбинаций этапов клонирования, рестрикции, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или лигирования, приводящих к получению конструкции, имеющей структурную кодирующую или не кодирующую последовательность, отличную от эндогенных нуклеиновых кислот, которые можно обнаружить в природных системах. Последовательности ДНК, кодирующие полипептиды, можно собирать из фрагментов

кДНК или из ряда синтетических олигонуклеотидов, чтобы получить синтетическую нуклеиновую кислоту, которая может экспрессироваться из рекомбинантной транскрипционной единицы, содержащейся в клетке или в бесклеточной транскрипционной и трансляционной системе.

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

Термины «антитела» и «иммуноглобулин» включают в себя антитела или иммуноглобулины любого изотипа, фрагменты антител, которые сохраняют специфическое связывание с антигеном, включая, помимо прочего, Fab-, Fv-, scFv- и Fd-фрагменты, химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела (scAb), однодоменные антитела (dAb), однодоменные антитела тяжелой цепи, однодоменные антитела легкой цепи, биспецифические антитела, мультиспецифические антитела и гибридные белки, содержащие антигенсвязывающую (в настоящем документе также называется связывание антигена) часть антитела и белка, не принадлежащего к антителу. Кроме того, этот термин охватывает Fab'-, Fv-, F(ab')₂- и другие фрагменты антител, которые сохраняют специфическое связывание с антигеном, а также моноклональные антитела. В контексте настоящего документа моноклональное антитело — это антитело, вырабатываемое группой идентичных клеток, которые вырабатываются в одной клетке путем многократной клеточной репликации. Другими словами, клон клеток вырабатывает только один вид антител. В то время как моноклональное антитело можно получить с помощью технологии получения гибридомы, также могут применяться и другие способы получения, известные специалистам в данной области техники (например, антитела, полученные из библиотек фагового дисплея антител). Антитело может быть одновалентным или двухвалентным. Антитело может представлять собой мономер иммуноглобулина (Ig), который является «Y-образной» молекулой, состоящей из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых цепей и двух легких цепей, соединенных дисульфидными связями.

В контексте настоящего документа термин «гуманизированное антитело» относится к антителу, содержащему части антител различного происхождения, причем по меньшей мере одна часть содержит аминокислотные последовательности человеческого

происхождения. Например, гуманизированное антитело может содержать части, полученные от иммуноглобулина нечеловеческого происхождения с требуемой специфичностью, например, от мыши, и полученные от последовательностей иммуноглобулина человеческого происхождения (например, химерный иммуноглобулин), химически соединенные вместе с помощью традиционных методик (например, синтетическим путем) или полученные в виде смежного полипептида с помощью методов генетической инженерии (например, ДНК, кодирующую части белка химерного антитела, могут экспрессировать для получения смежной полипептидной цепи). Другим примером гуманизированного антитела является антитело, содержащее одну или несколько цепей антитела, которые содержат полученную из антитела нечеловеческого происхождения CDR и полученную из легкой и/или тяжелой цепи человеческого происхождения каркасную область (например, CDR-привитые антитела с каркасными изменениями или без них). Химерные или CDR-привитые одноцепочечные антитела также охватываются термином «гуманизированный иммуноглобулин». См., например, Cabilly с соавт., патент США № 4,816,567; Cabilly с соавт., европейский патент № 0,125,023 B1; Boss с соавт., патент США № 4,816,397; Boss с соавт., европейский патент № 0,120,694 B1; Neuberger, M. S. с соавт., WO 86/01533; Neuberger, M. S. с соавт., европейский патент № 0,194,276 B1; Winter, патент США № 5,225,539; Winter, европейский патент № 0,239,400 B1; Padlan, E. A. с соавт., заявка на европейский патент № 0,519,596 A1. См. также Ladner с соавт., патент США № 4,946,778; Huston, патент США № 5,476,786 и Bird, R. E. с соавт., Science, 242: 423-426 (1988)) касательно одноцепочечных антител.

Например, гуманизированные антитела могут быть получены с помощью синтетических и/или рекомбинантных нуклеиновых кислот для получения генов (например, ДНК), кодирующих желаемую гуманизированную цепь. Например, последовательности нуклеиновой кислоты (например, ДНК), ориентированные на гуманизированные вариабельные участки, могут быть сконструированы с использованием способов осуществления мутагенеза с помощью ПЦР с целью изменения последовательностей ДНК, кодирующих человеческую или гуманизированную цепь, например, ДНК-матрицу предварительно гуманизированного вариабельного участка (см. Kamman, M., с соавт., Nucl. Acids Res., 17: 5404 (1989)); Sato, K., с соавт., Cancer Research, 53: 851-856 (1993); Daugherty, B. L. с соавт., Nucleic Acids Res., 19(9): 2471-2476 (1991); и Lewis, A. P. и J. S. Crowe, Gene, 101: 297-302 (1991)). Благодаря использованию этих или других подходящих способов также могут быть легко получены варианты. Например, клонированные вариабельные участки могут подвергаться мутагенезу и могут выбираться последовательности, кодирующие варианты, с желаемой специфичностью (например, из

фаговой библиотеки; см. Krebber с соавт., патент США № 5,514,548; Hoogenboom с соавт., WO 93/06213, опубликованный 1 апреля 1993)).

«Фрагменты антител» представляют собой часть интактного антитела, например, антигенсвязывающую область или переменный участок интактного антитела. К примерам фрагментов антител относятся Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и Fv-фрагменты; диатела, линейные антитела (Zapata с соавт., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)); доменные антитела (dAb; Holt с соавт. (2003) *Trends Biotechnol.* 21:484); молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В результате расщепления антител папаином получают два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, которые называются «Fab-фрагментами», каждый из которых имеет один антигенсвязывающий сайт, и остаточный «Fc-фрагмент» — обозначение, отражающее способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает F(ab')₂-фрагмент, который имеет два антигенсвязывающих активных центра и все еще способен к поперечному связыванию с антигеном.

«Fv» — это минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания антигена и антигенсвязывающий сайт. Эта область состоит из димера одного переменного домена тяжелой цепи и одного переменного домена легкой цепи в плотной нековалентной ассоциации. Именно в указанной конфигурации три CDR каждого переменного домена взаимодействуют для того, чтобы определить антигенсвязывающий сайт на поверхности димера V_H-V_L. В совокупности шесть CDR придают антителу антигенсвязывающую специфичность. Однако даже один переменный домен (или половина Fv, содержащая только три CDR, специфичных по отношению к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и при более низкой аффинности, чем весь сайт связывания.

«Fab-фрагмент» также содержит константный домен легкой цепи и первый константный домен (CH₁) тяжелой цепи. Fab-фрагменты отличаются от Fab'-фрагментов добавлением нескольких остатков на карбоксильном конце домена CH₁ тяжелой цепи, в том числе одного или более цистеинов из шарнирной области антитела. В настоящем документе Fab'-SH является обозначением для Fab'-фрагмента, в котором цистеиновые остатки константных доменов несут свободную тиольную группу. F(ab')₂-фрагменты антитела первоначально получали в виде пар Fab'-фрагментов, которые имеют шарнирные цистеины между ними. Известны также и другие способы химического связывания фрагментов антител.

«Легкие цепи» антител (иммуноглобулинов) от любых видов позвоночных могут быть отнесены к одному из двух четко различимых типов, называемых каппа и лямбда, на

основе аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей иммуноглобулины могут быть определены в разные классы. Существует пять основных классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на подклассы (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA и IgA2. Подклассы могут быть дополнительно разделены на типы, например, IgG2a и IgG2b.

«Одноцепочечные Fv», или «sFv», или «scFv» фрагменты антитела содержат домены V_H и V_L антитела, причем эти домены находятся в одной полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления Fv-полипептид дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L , дающий возможность sFv образовывать требуемую структуру для связывания антигена. Обзор по sFv см. у *Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).*

Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антитела с двумя антигенсвязывающими сайтами, фрагменты которых содержат переменный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с переменным доменом легкой цепи (V_L) в одной и той же полипептидной цепи (V_H - V_L). Вследствие использования линкера, который является слишком коротким, чтобы позволить объединение двух доменов в одной цепи, домены вынуждены объединяться с комплементарными доменами другой цепи и создавать два антигенсвязывающих сайта. Диатела более подробно описаны, например, в европейском патенте 404,097; WO 93/11161 и у Hollinger с соавт. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448.

В контексте настоящего документа термин «аффинность» относится к константе равновесия для обратимого связывания двух агентов (например, антитела и антигена) и выражается в виде константы диссоциации (K_D). Аффинность может быть по меньшей мере в 1 раз больше, по меньшей мере в 2 раза больше, по меньшей мере в 3 раза больше, по меньшей мере в 4 раза больше, по меньшей мере в 5 раз больше, по меньшей мере в 6 раз больше, по меньшей мере в 7 раз больше, по меньшей мере в 8 раз больше, по меньшей мере в 9 раз больше, по меньшей мере в 10 раз больше, по меньшей мере в 20 раз больше, по меньшей мере в 30 раз больше, по меньшей мере в 40 раз больше, по меньшей мере в 50 раз больше, по меньшей мере в 60 раз больше, по меньшей мере в 70 раз больше, по меньшей мере в 80 раз больше, по меньшей мере в 90 раз больше, по меньшей мере в 100 раз больше или по меньшей мере в 1000 раз или более больше, чем аффинность антитела к несвязанным аминокислотным последовательностям. Аффинность антитела к

белку-мишени может, например, составлять от примерно 100 наномоль (нМ) до примерно 0,1 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 1 пикомоль (пМ) или от примерно 100 нМ до примерно 1 фемтомоль (фМ) или более. В контексте настоящего документа термин «авидность» относится к устойчивости комплекса из двух или более агентов к диссоциации после разведения. В настоящем документе термины «иммунореактивный» и «предпочтительно связывается» используются взаимозаменяемо по отношению к антителам и/или антигенсвязывающим фрагментам.

Термин «связывание» относится к непосредственной ассоциации двух молекул вследствие, например, ковалентного, электростатического, гидрофобного и ионного взаимодействия и/или взаимодействия с водородными связями, включая такие виды взаимодействия, как соляные и водные мостики. Термин «специфическое связывание» относится к связыванию с аффинностью по меньшей мере 10^{-7} М или более, например, 5×10^{-7} М, 10^{-8} М, 5×10^{-8} М и более. Термин «неспецифическое связывание» относится к связыванию с аффинностью меньше чем примерно 10^{-7} М, например, к связыванию с аффинностью 10^{-6} М, 10^{-5} М, 10^{-4} М и т.д.

В контексте настоящего документа термин «CDR» или «определяющая комплементарность область» предназначен для обозначения несмежных антигенсвязывающих активных центров, которые находятся внутри варибельного участка полипептидов как тяжелой, так и легкой цепей. CDR были описаны Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991) (также упоминается в настоящем документе как Kabat 1991); by Chothia с соавт., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) (также упоминается в настоящем документе как Chothia 1987) и MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), где определения включают в себя перекрывание или подгруппы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. Тем не менее, применение любого из определений для обозначения CDR антитела, или привитых антител, или их вариантов охватываются в пределах объема указанного термина в соответствии с обозначением и использованием в настоящем документе. Аминокислотные остатки, которые охватывают CDR, в соответствии с определением в процитированных выше ссылочных материалах представлены ниже в таблице для сравнения. CDR, перечисленные в таблице 2, были определены в соответствии с Kabat 1991.

Таблица. Определения CDR

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR-1	31–35	26-32	30–35
V _H CDR-2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR-3	95–102	96-101	93-101

V _L CDR-1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR-2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR-3	89-97	91-96	89-96

¹ Нумерация остатков согласно номенклатуре Kabat с соавт. *выше*

² Нумерация остатков согласно номенклатуре Chothia с соавт. *выше*

³ Нумерация остатков согласно номенклатуре MacCallum с соавт. *выше*

В контексте настоящего документа термины «CDR-L1», «CDR-L2» и «CDR-L3» относятся, соответственно, к первой, второй и третьей CDR варибельного участка легкой цепи. В контексте настоящего документа термины «CDR-H1», «CDR-H2» и «CDR-H3» относятся, соответственно, к первой, второй и третьей CDR варибельного участка тяжелой цепи. В контексте настоящего документа термины «CDR-1», «CDR-2» и «CDR-3» относятся, соответственно, к первой, второй и третьей CDR варибельного участка любой из цепей.

В контексте настоящего документа термин «каркас», используемый по отношению к варибельному участку антитела, предназначен для обозначения всех аминокислотных остатков за пределами областей CDR внутри варибельного участка антитела. Каркас варибельного участка, как правило, представляет собой прерывистую аминокислотную последовательность длиной примерно 100–120 аминокислот, однако предназначен для обозначения только тех аминокислот, которые находятся за пределами CDR. В контексте настоящего документа термин «каркасная область» предназначен для обозначения каждого домена каркаса, который отделен при помощи CDR.

Термины «лечение», «лечить» и тому подобное используются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть профилактическим с точки зрения полного или частичного предотвращения заболевания или его симптомов и/или может быть терапевтическим с точки зрения частичного или полного излечения заболевания и/или неблагоприятного явления, связанного с этим заболеванием. В контексте данного документа термин «лечение» охватывает любое лечение заболевания или симптома у млекопитающего, и включает в себя: (а) предотвращение появления заболевания или симптома у субъекта, который может быть предрасположен к развитию заболевания или симптома, но у которого это заболевание или симптом еще не диагностировано; (b) ингибирование заболевания или симптома, т.е. прекращение его развития; или (с) облегчение заболевания, т.е. регрессию заболевания. Терапевтическое средство можно вводить до, во время или после начала заболевания или травмы. Лечение текущего заболевания, при котором лечение стабилизирует или уменьшает нежелательные клинические симптомы пациента, представляет особый интерес. Такое лечение желательно проводить до полной

потери функции в пораженных тканях. Желательно, чтобы терапия субъекту вводилась во время симптоматической стадии заболевания, и в некоторых случаях после симптоматической стадии заболевания.

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

Перед тем как продолжить описание настоящего изобретения, необходимо принять во внимание, что это изобретение не ограничено конкретными описанными вариантами реализации, поскольку они, конечно, могут варьироваться. Следует также понимать, что употребляемая в данном документе терминология применяется только для описания конкретных вариантов реализации и не имеет ограничительного характера, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Когда приводится диапазон значений, следует понимать, что данное изобретение охватывает каждое промежуточное значение с точностью до десятого знака нижнего предела, если в контексте явно не указано иное, между верхним и нижним пределом этого диапазона, а также любое другое указанное или промежуточное значение в таком указанном диапазоне. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны и также включены в данное изобретение с учетом любого специальным образом исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает в себя один или оба предела, диапазоны, исключаящие один или оба этих включенных предела, также включены в данное изобретение.

Если не указано иное, все употребляемые в данном документе технические и научные термины имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в данной области техники, к которой имеет отношение настоящее изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, также можно использовать при практической реализации или испытании настоящего изобретения, далее будут описаны предпочтительные способы и материалы. Все публикации, упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки с целью раскрытия и описания способов и/или материалов, в связи с которыми цитируются эти публикации.

Следует отметить, что употребление в данном документе и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает в себя отсылку на множественное

число, если в контексте явно не указано иное. Таким образом, например, отсылка к «варианту полипептида IL-2» включает множество таких полипептидов, а отсылка к «полипептиду тяжелой цепи HLA класса I» включает в себя отсылку к одному или нескольким полипептидам тяжелой цепи HLA класса I и их эквивалентам, известным специалистам в данной области техники и т.д. Следует также отметить, что в формулу изобретения могут вноситься правки с целью исключения любых необязательных элементов. Следовательно, данное утверждение должно служить в качестве предварительного основания для использования такой исчерпывающей терминологии, как «исключительно», «только» и т.п. в связи с указанием элементов формулы изобретения, или использования «отрицательного» признака.

Следует понимать, что некоторые особенности данного изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, также могут быть представлены в комбинации в виде одного варианта реализации. И наоборот, различные особенности данного изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации, также могут быть представлены отдельно или в любой подходящей подкомбинации. Все комбинации вариантов реализации, которые относятся к данному изобретению, явным образом включены в данное изобретение и описаны в данном документе точно так же, как если бы все без исключения комбинации были отдельно и явным образом описаны. Кроме того, все подкомбинации различных вариантов реализации и их элементов также явным образом включены в данное изобретение и описаны в данном документе точно так же, как если бы все без исключения подкомбинации были отдельно и явным образом описаны.

Обсуждаемые в данном документе публикации представлены исключительно в отношении их содержания до даты подачи настоящей заявки. Ничто в настоящем документе не следует интерпретировать как признание того, что данное изобретение не имеет права датировать такую публикацию более ранним числом в силу более раннего изобретения. Более того, даты представленных публикаций могут отличаться от фактических дат публикаций, что требует независимого подтверждения.

Подробное описание сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к способам лечения, включающим введение индивидууму, нуждающемуся в этом, мультимерного полипептида, модулирующего Т-клетки (мультимерный полипептид «synTas»), и по меньшей мере одного дополнительного терапевтического вещества. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое вещество представляет собой ингибитор иммунной контрольной точки. В некоторых случаях ингибитор иммунной

контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к иммунной контрольной точке. Настоящее раскрытие обеспечивает способы, включающие введение индивидууму мультимерного полипептида (synTas) и ингибитора иммунной контрольной точки. Настоящее изобретение относится к способам, включающим введение мультимерного полипептида (synTas) индивидууму, который подвергается лечению ингибитором иммунной контрольной точки.

«Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид» также обозначается в данном документе как «полипептид synTas» или «мультимерный полипептид synTas» или просто «synTas». Полипептид synTas содержит модулирующий домен. В некоторых случаях модулирующий домен содержит аминокислотную последовательность дикого типа, например аминокислотную последовательность, обнаруженную в природном модулирующем полипептиде. В некоторых случаях модулирующий домен представляет собой вариант модулирующего домена, где вариант модулирующего домена проявляет пониженную аффинность связывания с иммуномодулирующим полипептидом по сравнению с аффинностью модуляторного домена дикого типа к иммуномодулирующему полипептиду. Полипептид synTas может модулировать активность Т-клетки-мишени. Полипептид synTas, содержащий вариант модуляторного домена, обеспечивает повышенную специфичность к клеткам-мишеням.

В некоторых случаях способ лечения по настоящему изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом, synTas и ингибитора иммунной контрольной точки. В некоторых случаях synTas и ингибитор иммунной контрольной точки обеспечивают синергетический эффект по сравнению с эффектом synTas при введении отдельно (в монотерапии) или ингибитора иммунной контрольной точки при введении отдельно (в монотерапии).

Комбинация synTas и ингибитора иммунной контрольной точки в некоторых случаях более эффективна, чем аддитивные эффекты synTas, вводимого в качестве монотерапии, или ингибитора иммунной контрольной точки, вводимого в качестве монотерапии. Например, в некоторых случаях синергетический эффект synTas и ингибитора иммунной контрольной точки позволяет использовать более низкие дозы synTas или ингибитора иммунной контрольной точки и/или проводить менее частое введение synTas или ингибитора иммунной контрольной точки индивидууму, нуждающемуся в этом. Возможность использовать более низкие дозы терапевтических агентов (ингибитор synTas или иммунная контрольная точка) и/или вводить такие агенты реже может снизить токсичность или другие неблагоприятные побочные эффекты, которые могут быть связаны с введением терапевтического агента в монотерапии, без

снижение эффективности терапевтического агента при лечении. Кроме того, синергетический эффект synTас и ингибитора иммунной контрольной точки может привести к усилению клинической пользы по сравнению с клинической пользой, получаемой при монотерапии synTас или монотерапии ингибитором иммунной контрольной точки. Примеры клинической пользы включают, например, уменьшение массы опухоли у индивидуума; уменьшение количества раковых клеток у человека; увеличенное время выживания человека; увеличенное время ремиссии; и тому подобное. Наконец, синергетический эффект synTас и ингибитора иммунной контрольной точки может снизить неблагоприятные или нежелательные побочные эффекты, связанные с монотерапией synTас или монотерапией ингибитором иммунной контрольной точки.

Ингибиторы иммунной контрольной точки

Типичные ингибиторы иммунной контрольной точки включают ингибиторы, которые нацелены на полипептид иммунной контрольной точки, такие как CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K дельта, PI3K гамма, TAM, аргиназа, CD137 (также известная как 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, CD96, TIGIT, CD122, PD-1, PD-L1 и PD-L2. В некоторых случаях полипептид иммунной контрольной точки представляет собой стимулирующую молекулу контрольной точки, выбранную из CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR, CD122 и CD137. В некоторых случаях полипептид иммунной контрольной точки представляет собой молекулу, ингибирующую контрольную точку, выбранную из A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3, CD96, TIGIT и VISTA.

В некоторых случаях ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к иммунной контрольной точке. В некоторых случаях антитело к иммунной контрольной точке представляет собой моноклональное антитело. В некоторых случаях антитело к иммунной контрольной точке является гуманизированным или деиммунизированным, так что антитело по существу не вызывает иммунного ответа у человека. В некоторых случаях антитело представляет собой гуманизированное моноклональное антитело. В некоторых случаях антитело к иммунной контрольной точке представляет собой деиммунизированное моноклональное антитело. В некоторых случаях антитело к иммунной контрольной точке является полностью человеческим моноклональным антителом. В некоторых случаях антитело к иммунной контрольной точке ингибирует связывание полипептида иммунной контрольной точки с лигандом полипептида иммунной контрольной точки. В некоторых случаях антитело к иммунной контрольной точке ингибирует связывание полипептида иммунной контрольной точки с рецептором полипептида иммунной контрольной точки.

Антитела, например, моноклональные антитела, которые специфичны к иммунным контрольным точкам и которые действуют как ингибиторы иммунной контрольной точки, известны в данной области. См., например, Wurz et al. (2016) *Ther. Adv. Med. Oncol.* 8:4; и Naidoo et al. (2015) *Ann. Oncol.* 26:2375.

Подходящие антитела к иммунной контрольной точке включают, но не ограничиваются ими, ниволумаб (Bristol-Myers Squibb), пембролизумаб (Merck), пидилизумаб (Curetech), AMP-224 (GlaxoSmithKline/Amplimmune), MPDL3280A (Roche), MDX-1105 (Medarex, Inc./Bristol Myer Squibb), MEDI-4736 (Medimmune/AstraZeneca), арелумаб (Merck Serono), ипилимумаб (YERVOY, Bristol-Myers Squibb), тремелидумаб (Pfizer), пидилизумаб (CureTech, Ltd.), IMP321 (Immutep SA), MGA271 (Macrogenics), BMS-986016 (Bristol-Meyers Squibb), лирилумаб (Bristol-Myers Squibb), урелумаб (Bristol-Meyers Squibb), PF-05082566 (Pfizer), IPH2101 (Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb), MEDI-6469 (MedImmune/AZ), CP-870,893 (Genentech), могамулизумаб (Kyowa Hakko Kirin), варлилумаб (CellDex Therapeutics), авелумаб (EMD Serono), галиксимаб (Biogen Idec), AMP-514 (Amplimmune/AZ), AUNP 12 (Aurigene and Pierre Fabre), индоксимод (NewLink Genetics), NLG-919 (NewLink Genetics), INCB024360 (Incyte), KN035 и их комбинации.

Подходящие антитела к LAG3 включают, например, BMS-986016 и LAG525. Подходящие антитела к GITR включают, например, TRX518, МК-4166, INCAGN01876 и МК-1248. Подходящие антитела к OX40 включают, например, MEDI0562, INCAGN01949, GSK2831781, GSK-3174998, MOXR-0916, PF-04518600 и LAG525. Подходящие антитела к VISTA представлены, например, в WO 2015/097536.

Подходящая дозировка анти-иммунного контрольного антитела составляет от примерно 1 мг/кг до примерно 2400 мг/кг в сутки, например от примерно 1 мг/кг до примерно 1200 мг/кг в сутки, включая от примерно 50 мг/кг до примерно 1200 мг/кг в сутки. Другие типичные дозировки таких агентов включают примерно 5 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 35 мг/кг, 40 мг/кг, 45 мг/кг, 50 мг/кг, 60 мг/кг, 70 мг/кг, 80 мг/кг, 90 мг/кг, 100 мг/кг, 125 мг/кг, 150 мг/кг, 175 мг/кг, 200 мг/кг, 250 мг/кг, 300 мг/кг, 400 мг/кг, 500 мг/кг, 600 мг/кг, 700 мг/кг, 800 мг/кг, 900 мг/кг, 1000 мг/кг, 1100 мг/кг, 1200 мг/кг, 1300 мг/кг, 1400 мг/кг, 1500 мг/кг, 1600 мг/кг, 1700 мг/кг, 1800 мг/кг, 1900 мг/кг, 2000 мг/кг, 2100 мг/кг, 2200 мг/кг и 2300 мг/кг в сутки. Эффективную дозу антитела можно вводить в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более поделенных на части доз, вводимых отдельно через соответствующие интервалы в течение суток.

Антитела к PD-1

В некоторых случаях ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело к PD-1.

Подходящие антитела к PD-1 включают, например, ниволумаб, пембролизумаб (также известный как MK-3475), пидилизумаб, SHR-1210, PDR001 и AMP-224. В некоторых случаях моноклональное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб, пембролизумаб или PDR001. Подходящие антитела к PD1 описаны в патентной публикации США № 2017/0044259. В отношении пидилизумаба см., например, Rosenblatt et al. (2011) *J. Immunother.* 34:409-18.

В некоторых случаях антитело к PD1 представляет собой пембролизумаб. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи пембролизумаба:

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGI
NPSNGGTNFKNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDY
WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP
 CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQFNSTYRVSVLTVLTQDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
 LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO:51).

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) подчеркнута.

Аминокислотная последовательность легкой цепи пембролизумаба:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAS
YLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQHSRDLPFTFGGGTKVEIKRTVAAP
 SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRQAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:52).

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) подчеркнута.

В некоторых случаях антитело к PD-1 содержит области VH и VL пембролизумаба. В некоторых случаях антитело к PD-1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи пембролизумаба.

В некоторых случаях антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб (также известный как MDX-1106 или BMS-936558; см., например, Topalian et al. (2012) *N. Eng. J. Med.* 366:2443-2454; и патент США № 8,008,449). Аминокислотная последовательность тяжелой цепи ниволумаба:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW
 YDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLV
 TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV

LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO:53).

Аминокислотная последовательность легкой цепи ниволумаба:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLS
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:54).

В некоторых случаях антитело к PD-1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи ниволумаба.

Антитела к CTLA4

В некоторых случаях антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб. В отношении тремелиумаба см., например, Ribas et al. (2013) *J. Clin. Oncol.* 31:616-22.

В некоторых случаях антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимумаб. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи ипилимумаба представляет собой:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISY
DGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGO
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:55).

Аминокислотная последовательность области VH подчеркнута.

Аминокислотная последовательность легкой цепи ипилимумаба:

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRA
TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLS
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:56).

Аминокислотная последовательность области VL подчеркнута.

В некоторых случаях антитело к CTLA4 содержит области VH и VL ипилимумаба. В некоторых случаях антитело к CTLA4 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи

ипилимумаба.

Антитела к PD-L1

В некоторых случаях ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело к PD-L1. В некоторых случаях моноклональное антитело к PD-L1 представляет собой BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (также известное как RG7446), KN035 или MSB0010718C. В некоторых случаях моноклональное антитело к PD-L1 представляет собой MPDL3280A (атезолизумаб) или MEDI4736 (дурвалумаб). В отношении дурвалумаба см., например, WO 2011/066389. В отношении атезолизумаба, см., например, патент США № 8,217,149.

В некоторых случаях антитело к PD-L1 представляет собой атезолизумаб. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи атезолизумаба:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKGLEWVAWISPY
GGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:57).

Аминокислотная последовательность легкой цепи атезолизумаба:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:58).

В некоторых вариантах реализации анти-тело к PD-L1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи атезолизумаба.

В некоторых случаях антитело к PDL1 представляет собой KN035, полностью гуманизированное однодоменное антитело к PD-L1, слитое с человеческим Fc-полипептидом IgG1. Zhang et al. (2017) *Cell Discov.* 3:17004; и WO 2017/020801. Однодоменная часть антитела KN035 может содержать аминокислотную последовательность:

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGKMSSRRRCMAWFRQAPGKERERVAKLLTTSGST
YLADSVKGRFTISQNNAKSTVYLQMNSLKPEDTAMYYCAADSFEDPTCTLVTSSGAFAQ
YWGQGTQVTVS (SEQ ID NO:216), где подчеркнутые аминокислоты представляют собой CDR1, CDR2 и CDR3.

Модулирующие Т-клетки мультимерные полипептиды (synTac)

Мультимерные (например, гетеродимерные, гетеротримерные) полипептиды, подходящие для использования в способе по настоящему изобретению, описаны ниже. Мультимерные полипептиды представляют собой полипептиды, модулирующие Т-клетки, а также упоминаются в данном документе как «модулирующие Т-клетки мультимерные полипептиды» или «synTac» (от immunological synapse for T cell activation — иммунологический синапс для активации Т-клеток).

Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; и ii) необязательно Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или не-Ig-каркас, где мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих («MOD») доменов, где один или несколько иммуномодулирующих доменов представляют собой: А) на С-конце первого полипептида; В) на N-конце второго полипептида; С) на С-конце второго полипептида; или D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида. В некоторых случаях Т-клеточный мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) иммуномодулирующий домен; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; и ii) полипептид Fc Ig. В некоторых случаях Т-клеточный мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий, от N-конца до С-конца: i) иммуномодулирующий домен; iii) второй полипептид ГКГС; и ii) полипептид Fc Ig. В некоторых случаях Т-клеточный мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; и ii) полипептид Fc Ig; и iii) иммуномодулирующий («MOD») домен. В некоторых случаях Т-клеточный мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; и ii) полипептид Fc Ig; и iii) иммуномодулирующий («MOD») домен. В некоторых случаях Т-клеточный мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий,

от N-конца до С-конца: i) иммуномодулирующий домен; и ii) второй полипептид ГКГС. В некоторых случаях Т-клеточный мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) иммуномодулирующий домен; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит не-Ig каркас. Например, в некоторых случаях не-Ig-каркас представляет собой XTEN-пептид, полипептид трансферрина, Fc-рецепторный полипептид, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид, или шелкоподобный эластиноподобный полипептид.

В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид $\beta 2$ -микроглобулина ($\beta 2M$); и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I. Подходящий $\beta 2$ -М полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида $\beta 2M$, изображенного на фиг. 6. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь HLA-A, HLA-B или HLA-C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательности, представленной на одной из фиг. 5A–5C. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Эпитоп, присутствующий в мультимерном полипептиде, может представлять собой Т-клеточный эпитоп.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит полипептид Fc Ig. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4, полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM. В некоторых случаях полипептид Fc Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100 % идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 4A–4C.

Первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида могут быть

нековалентно связаны. Первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида могут быть ковалентно связаны. Первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида могут быть ковалентно связаны, причем ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС или линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, и второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys, и где дисульфидная связь находится между первым и вторым остатками Cys.

Мультимерный полипептид может включать линкер между одним или несколькими из: эпитопа и первого полипептида ГКГС; двумя копиями иммуномодулирующего («MOD») полипептида; иммуномодулирующим полипептидом и вторым полипептидом ГКГС; и вторым полипептидом ГКГС и полипептидом Fc Ig.

Иммуномодулирующие полипептиды, подходящие для включения в Т-клеточный мультимерный полипептид, включают, но не ограничиваются ими, полипептид 4-1BBL, полипептид B7-1; полипептид B7-2, полипептид ICOS-L, полипептид OX-40L, полипептид CD80, полипептид CD86, полипептид IL-2, полипептид PD-L1, полипептид FasL и полипептид PD-L2.

Мультимерный полипептид может включать 2 или более иммуномодулирующих полипептида. Мультимерный полипептид может включать 2 иммуномодулирующих полипептида. В некоторых случаях 2 иммуномодулирующих полипептида находятся в тандеме. Мультимерный полипептид может включать 3 иммуномодулирующих полипептида. В некоторых случаях 3 иммуномодулирующих полипептида находятся в тандеме.

Мультимерный полипептид может содержать третий полипептид, где третий полипептид содержит иммуномодулирующий полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность аминокислотной последовательности с иммуномодулирующим полипептидом первого полипептида или второго полипептида. В некоторых случаях третий полипептид ковалентно связан с первым полипептидом.

Примеры подходящих мультимерных полипептидов описаны в WO 2017/151940; WO 2017/201210; и PCT/US2017/067663. Раскрытия WO 2017/151940, WO 2017/201210 и PCT/US2017/067663 включены сюда посредством ссылки.

Полипептиды ГКГС

Как отмечено выше, мультимерный полипептид по настоящему изобретению включает полипептиды ГКГС. Для целей настоящего изобретения термин «полипептиды

основного комплекса гистосовместимости (ГКГС)» включает полипептиды ГКГС различных видов, в том числе полипептиды ГКГС человека (также называемые антигены лейкоцитов человека (HLA)), полипептиды ГКГС грызуна (например, мыши, крысы и т.д.) и полипептиды ГКГС других видов млекопитающих (например, зайцеобразных, приматов, не являющихся людьми, собачьих, кошачьих, копытных (например, лошадей, быков, овец, коз и т.д.) и т.п. Подразумевается, что термин «полипептид ГКГС» включает полипептиды ГКГС класса I (например, β -2-микроглобулин и тяжелую цепь ГКГС класса I) и полипептиды ГКГС класса II (например, α -полипептид ГКГС класса II и β -полипептид ГКГС класса II).

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

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

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного

полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на одной из фиг. 5А–5С.

HLA-A

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

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETRKYKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ
YAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
LVETRPAGDGTQKWA AVVVPSGQEQRYSHTVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:59).

HLA-A (Y84A; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A человека (Y84A; A236C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETRKYKAHSQTHRVDLGTLRG
YNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAA
QTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSD
HEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRP

GDGTQKWA AVVVPSGQEQRYSHTVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO: 50), где аминокислота 84 представляет собой Ala и аминокислота 236 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с Cys-12 варианта полипептида β 2M, содержащего замену R12C.

HLA-A (Y84C; A139C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит замены Y84C и A139C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A человека (Y84C; A139C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDGETRKYKAHSQTHRVDLGLTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ
YAYDGKDYLKEDLRSWTAADMCAQTTHKHWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
LVETRPAGDGTQKWA AVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:196), где аминокислота 84 представляет собой Cys и аминокислота 139 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-84 образует внутрицепочечную дисульфидную связь с Cys-139.

HLA-A A11 (HLA-A11)

В качестве одного неограничивающего примера полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A A11 человека (также называемой «HLA-A11»):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
WDQETRNKKAQSQTDRVDLGLTLRGYYNQSEDSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQD
AYDGKDYLALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLRRYL
ENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL
VETRPAGDGTQKWA AVVVPSGEEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:197).

Такая тяжелая цепь ГКГС класса I может быть видна в азиатских популяциях, включая популяции людей азиатского происхождения.

HLA-A A11 (Y84A; A236C)

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой аллель HLA-A A11, который содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС

класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A A11 человека (Y84A; A236C):
 GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEY
 WDQETRN VKAQSQTDRVDLGTLRGA^{YNQ}SEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQD
 AYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAANAEEQQRAYLEGTCVEWLRRYL
 ENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL
 VETRPC^{CGD}GTGFQKWA^{AVVV}PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:198),
 где аминокислота 84 представляет собой Ala и аминокислота 236 представляет собой Cys.
 В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с Cys-12 варианта полипептида β 2M, содержащего замену R12C.

HLA-B

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере, на 99%, или 100%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-B человека:
 GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRI^{SV}GYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEY
 WDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGY^{YNQ}SEAGSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQY
 AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECVEWLRRYLE
 NGKDKLERADPPKTHVT^{HH}HPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL
 VETRPAGDR^{TF}QKWA^{AVVV}PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ ID NO: 199).

HLA-B (Y84A; A236C)

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой полипептид HLA-B, который содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-B человека (Y84A; A236C):
 GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRI^{SV}GYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEY

WDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGAYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHDQY
 AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLE
 NGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELV
 ETRPCGDRTFQKWA⁸⁴AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE²³⁶P (SEQ ID NO: 200),
 где аминокислота 84 представляет собой Ala и аминокислота 236 представляет собой Cys.
 В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с Cys-12
 варианта полипептида β 2M, содержащего замену R12C.

HLA-B (Y84C; A139C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит замены Y84C и A139C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-B человека (Y84C; A139C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEY
 WDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHDQY
 AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLE
 NGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELV
 ETRPAGDRTFQKWA⁸⁴AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE¹³⁹P (SEQ ID NO:201),
 где аминокислота 84 представляет собой Cys и аминокислота 139 представляет собой Cys.
 В некоторых случаях Cys-84 образует внутрицепочечную дисульфидную связь с Cys-139.

HLA-C

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере, на 99%, или 100%, идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-C человека:

CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEY
 WDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSEDSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQ
 SAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQRLRAYLEGTCVEWLRRYLE
 NGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELV
 ETRPAGDGT FQKWA⁸⁴AVVPSGQE QRYTCHMQHEGLQEPLT LSWEP (SEQ ID NO: 202).

HLA-C (Y84A; A236C)

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой полипептид HLA-C, который содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-C человека (Y84A; A236C):
 CSHSMRYFDTA VSRPGRGEP RFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEY
 WDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGAYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLRGYDQ
 SAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLE
 NGKETLQRAEPPKTHVTHNPLSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTELV
 ETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLSWEP (SEQ ID NO:203),
 где аминокислота 84 представляет собой Ala и аминокислота 236 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с Cys-12 варианта полипептида β 2M, содержащего замену R12C.

HLA-C (Y84C; A139C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит замены Y84C и A139C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-C человека (Y84C; A139C):
 CSHSMRYFDTA VSRPGRGEP RFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEY
 WDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGCYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLRGYDQ
 SAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLE
 NGKETLQRAEPPKTHVTHNPLSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTELV
 ETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLSWEP (SEQ ID NO:204),
 где аминокислота 84 представляет собой Cys и аминокислота 139 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-84 образует внутрицепочечную дисульфидную связь с Cys-139.

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%,

по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на одной из фиг. 3А–3С.

В качестве примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25–365 аминокислотной последовательности полипептида тяжелой цепи HLA-A человека, изображенной на фиг. 3А.

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25–362 аминокислотной последовательности полипептида тяжелой цепи HLA-B человека, изображенной на фиг. 3В.

В качестве другого примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25–362 аминокислотной последовательности полипептида тяжелой цепи HLA-C человека, изображенного на фиг. 3С.

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

GPHSRLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSADNPRFEPRAPWMEQ
EGPEYWEEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRYYNQSKGGSHTFQRMFGCDVGS DWRLLR
GYQQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKWEQAGDAEYYRAYLEGECEVWL
RRYLELGNETLLRTDSPKAHVTYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQ
DMELVETRPAGDGTQKWA AVVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW (SEQ ID

NO:60).

Полипептид β 2-микроглобулина (β 2M) мультимерного полипептида может представлять собой полипептид β 2M человека, полипептид β 2M примата, не являющегося человеком, полипептид β 2M мыши и тому подобное. В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью β 2M, изображенной на фиг. 6. В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотами с 21 по 119 аминокислотной последовательности β 2M, изображенной на фиг. 6.

В некоторых случаях полипептид ГКГС содержит одну аминокислотную замену относительно эталонного полипептида ГКГС (где эталонный полипептид ГКГС может быть полипептидом ГКГС дикого типа), где одиночная аминокислотная замена заменяет аминокислоту цистеиновым (Cys) остатком. Такие цистеиновые остатки, когда они присутствуют в полипептиде ГКГС первого полипептида мультимерного полипептида по настоящему изобретению, могут образовывать дисульфидную связь с цистеиновым остатком, присутствующим во второй полипептидной цепи мультимерного полипептида по настоящему изобретению.

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

Например, в некоторых случаях одна из следующих пар остатков в β 2-микроглобулине HLA и тяжелой цепи HLA класса I замещается цистеинами (где номера остатков соответствуют номерам зрелого полипептида): 1) остаток β 2M 12, остаток тяжелой цепи HLA класса I 236; 2) остаток β 2M 12, остаток тяжелой цепи HLA класса I 237; 3) остаток β 2M 8, остаток тяжелой цепи HLA класса I 234; 4) остаток β 2M 10, остаток тяжелой цепи HLA класса I 235; 5) остаток β 2M 24, остаток тяжелой цепи HLA класса I

236; 6) остаток $\beta 2M$ 28, остаток тяжелой цепи HLA класса I 232; 7) остаток $\beta 2M$ 98, остаток тяжелой цепи HLA класса I 192; 8) остаток $\beta 2M$ 99, остаток тяжелой цепи HLA класса I 234; 9) остаток $\beta 2M$ 3, остаток тяжелой цепи HLA класса I 120; 10) остаток $\beta 2M$ 31, остаток тяжелой цепи HLA класса I 96; 11) остаток $\beta 2M$ 53, остаток тяжелой цепи HLA класса I 35; 12) остаток $\beta 2M$ 60, остаток тяжелой цепи HLA класса I 96; 13) остаток $\beta 2M$ 60, остаток тяжелой цепи HLA класса I 122; 14) остаток $\beta 2M$ 63, остаток тяжелой цепи HLA класса I 27; 15) остаток $\beta 2M$ Arg3, остаток тяжелой цепи HLA класса I Gly120; 16) остаток $\beta 2M$ His31, остаток тяжелой цепи HLA класса I Gln96; 17) остаток $\beta 2M$ Asp53, остаток тяжелой цепи HLA класса I Arg35; 18) остаток $\beta 2M$ Trp60, остаток тяжелой цепи HLA класса I Gln96; 19) остаток $\beta 2M$ Trp60, остаток тяжелой цепи HLA класса I Asp122; 20) остаток $\beta 2M$ Tyr63, остаток тяжелой цепи HLA класса I Tyr27; 21) остаток $\beta 2M$ Lys6, остаток тяжелой цепи HLA класса I Glu232; 22) остаток $\beta 2M$ Gln8, остаток тяжелой цепи HLA класса I Arg234; 23) остаток $\beta 2M$ Tyr10, остаток тяжелой цепи HLA класса I Pro235; 24) остаток $\beta 2M$ Ser11, остаток тяжелой цепи HLA класса I Gln242; 25) остаток $\beta 2M$ Asn24, остаток тяжелой цепи HLA класса I Ala236; 26) остаток $\beta 2M$ Ser28, остаток тяжелой цепи HLA класса I Glu232; 27) остаток $\beta 2M$ Asp98, остаток тяжелой цепи HLA класса I His192; и 28) остаток $\beta 2M$ Met99, остаток тяжелой цепи HLA класса I Arg234. Нумерация аминокислот тяжелой цепи ГКГС/HLA класса I относится к зрелой тяжелой цепи ГКГС/HLA класса I без сигнального пептида. Например, в аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 5А, которая включает сигнальный пептид, Gly120 представляет собой Gly144; Gln96 представляет собой Gln120; и т.д. В некоторых случаях полипептид $\beta 2M$ содержит замену R12C, а тяжелая цепь HLA класса I содержит замену A236C; в таких случаях дисульфидная связь образуется между Cys-12 полипептида $\beta 2M$ и Cys-236 тяжелой цепи HLA класса I. Например, в некоторых случаях остаток 236 аминокислотной последовательности зрелого HLA-A (то есть остаток 260 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 5А) замещен Cys. В некоторых случаях остаток 236 аминокислотной последовательности зрелого HLA-B (то есть остаток 260 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 5В) замещен Cys. В некоторых случаях остаток 236 аминокислотной последовательности зрелого HLA-C (то есть остаток 260 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 5С) замещен Cys. В некоторых случаях остаток 32 (соответствующий Arg-12 зрелого $\beta 2M$) аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 6, замещен Cys.

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

IQRTPKIQVY	SRHPAENGKS	NFLNCYVSGF
HPSDIEVDLLKNGERIEKVE	HSDLFSKDW	SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC

RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:61). В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную последовательность: IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:48).

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

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DAASQRMEPRAPWIEQE GPEYWDGETR KVKAHSQT HRVDLGT LRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR GYHQYAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGED QTQDTELVETRPAGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:59).

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

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DAASQRMEPRAPWIEQE GPEYWDGETR KVKAHSQT HRVDLGT LRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR GYHQYAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGED QTQDTELVETRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:62).

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

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DAASQRMEPRAPWIEQEGPEY WDGETR KVKAHSQT HRVDLGT LRGAYNNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQ YAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGEDQTQDTE LVETRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:50).

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

IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID NO:48); и полипептид тяжелой цепи HLA класса I мультимерного полипептида по настоящему изобретению содержит следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DAASQRMEPRAPWIEQE GPEYWDGETR KVKAHSQT HRVDLGT LRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR

GYHQAAYDGGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTNHAUSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRVTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ
ID NO:62), где остатки Cys, которые подчеркнуты и выделены жирным шрифтом, образуют дисульфидную связь друг с другом в мультимерном полипептиде.

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

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW
SFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:48).

Каркасные полипептиды

Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид включает полипептид Fc или другой подходящий каркасный полипептид.

Подходящие каркасные полипептиды включают в себя каркасные полипептиды на основе антител и каркасы не на основе антител. Каркасы не на основе антител включают, например, альбумин, полипептид XTEN (удлиненный рекомбинантный), трансферрин, полипептид рецептора Fc, эластиноподобный полипептид (см., например, Hassouneh et al. (2012) *Methods Enzymol.* 502:215; например, полипептид, содержащий пентапептидную повторяющуюся единицу (Val-Pro-Gly-X-Gly; SEQ ID NO: 212), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от пролина), альбумин-связывающий полипептид, шелкоподобный полипептид (см., например, Valluzzi et al. (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165) шелкоподобно-эластиноподобный полипептид (SELP; см., например, Megeed et al. (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075) и тому подобное. Подходящие полипептиды XTEN включают, например, полипептиды, раскрытые в WO 2009/023270, WO 2010/091122, WO 2007/103515, US 2010/0189682 и US 2009/0092582; см. также Schellenberger et al. (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186). Подходящие полипептиды альбумина включают, например, человеческий сывороточный альбумин.

Подходящие каркасные полипептиды в некоторых случаях представляют собой полипептиды, увеличивающие период полувыведения. Таким образом, в некоторых случаях подходящий каркасный полипептид увеличивает период полувыведения *in vivo* (например, период полувыведения из сыворотки) мультимерного полипептида по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, в котором отсутствует каркасный полипептид. Например, в некоторых случаях каркасный полипептид увеличивает период полувыведения *in vivo* (например, период полувыведения в сыворотке) мультимерного полипептида по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, в котором отсутствует каркасный полипептид, по меньшей мере примерно

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

Полипептиды Fc

В некоторых случаях первая и/или вторая полипептидная цепь мультимерного полипептида содержит полипептид Fc. Полипептид Fc мультимерного полипептида может представлять собой Fc человеческого IgG1, Fc человеческого IgG2, Fc человеческого IgG3, Fc человеческого IgG4 и т.д. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательности области Fc, изображенной на фиг.4A–C. В некоторых случаях область Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, при по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc человеческого IgG1, изображенным на фиг. 4A. В некоторых случаях область Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, при по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% или 100% идентичности аминокислотной

[illegible]

примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 1–276 полипептида Fc человеческого IgM, представленного на фиг. 4B. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc человеческого IgA, представленным на фиг. 4C; например, полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 1–234 полипептида Fc человеческого IgA, представленного на фиг. 4C.

В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A (Fc человеческого IgG1). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A (Fc человеческого IgG1), за исключением замены N297 аминокислотой, отличной от аспарагина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33C (Fc человеческого IgG1, содержащий замену N297A). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A (Fc человеческого IgG1), за исключением замены L234 аминокислотой, отличной от лейцина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A (Fc человеческого IgG1), за исключением замены L235 аминокислотой, отличной от лейцина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33D (Fc человеческого IgG1, содержащий замену L234A и замену L235A). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A

(Fc человеческого IgG1), за исключением замены P331 аминокислотой, отличной от пролина; в некоторых случаях замена представляет собой замену P331S. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A (Fc человеческого IgG1), за исключением замен в L234 и L235 аминокислотами, отличными от лейцина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33A (Fc человеческого IgG1), за исключением замен в L234 и L235 аминокислотами, отличными от лейцина, и замены P331 аминокислотой, отличной от пролина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33B (Fc человеческого IgG1, содержащий замены L234F, L235E и P331S). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в мультимерном полипептиде, представляет собой полипептид Fc IgG1, который содержит замены L234A и L235A.

Линкеры

Мультимерный полипептид может включать линкерные пептиды, расположенные, например, между эпитопом и полипептидом ГКГС; между полипептидом ГКГС и иммуномодулирующим полипептидом; между полипептидом ГКГС и полипептидом Fc Ig; между первым иммуномодулирующим полипептидом и вторым иммуномодулирующим полипептидом; или между вторым иммуномодулирующим полипептидом и третьим иммуномодулирующим полипептидом.

Например, мультимерный полипептид может включать линкерные пептиды, расположенные, например, между эпитопом и полипептидом ГКГС; между полипептидом ГКГС и иммуномодулирующим полипептидом; между полипептидом ГКГС и полипептидом Fc Ig; между первым вариантом полипептида IL-2 и вторым вариантом полипептида IL-2; или между вторым вариантом полипептида IL-2 и третьим вариантом полипептида IL-2. В качестве другого примера, мультимерный полипептид может включать линкерные пептиды, расположенные, например, между эпитопом и полипептидом ГКГС; между полипептидом ГКГС и иммуномодулирующим полипептидом; между полипептидом ГКГС и полипептидом Fc Ig; между первым вариантом полипептида 4-1BBL и вторым вариантом полипептида 4-1BBL; или между вторым вариантом полипептида 4-1BBL и третьим вариантом полипептида 4-1BBL.

Подходящие линкеры (также называемые «спейсерами») могут быть легко выбраны и могут иметь любую из ряда подходящих длин, таких как от 1 аминокислоты до

25 аминокислот, от 3 аминокислот до 20 аминокислот, от 2 аминокислот кислот до 15 аминокислот, от 3 до 12 аминокислот, в том числе от 4 до 10 аминокислот, от 5 до 9 аминокислот, от 6 до 8 аминокислот или от 7 до 8 аминокислот. Подходящий линкер может иметь 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислот в длину.

К примерам линкеров относятся полимеры глицина $(G)_n$, глицин-сериновые полимеры (включая, например, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:210) и $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:211), где n представляет собой целое число по меньшей мере один), глицин-аланиновые полимеры, аланин-сериновые полимеры, а также другие гибкие линкеры, известные в данной области. Могут быть использованы полимеры глицина и глицин-сериновые полимеры, Gly и Ser обе являются относительно неструктурированными, поэтому могут служить нейтральным соединением между компонентами. Могут быть использованы полимеры глицина, глицин получает значительно больше фи-пси пространства, чем даже аланин, и значительно менее ограничен, чем остатки с более длинными боковыми цепями (см. Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992)).

Примеры линкеров могут содержать аминокислотные последовательности, включая, но не ограничиваясь ими, GGS G (SEQ ID NO:65), GGSGG (SEQ ID NO:66), GSGSG (SEQ ID NO:67), GSGGG (SEQ ID NO:68), GGGSG (SEQ ID NO:69), GSSSG (SEQ ID NO:70) и им подобные. Примеры линкеров могут включать, например, $Gly(Ser_4)_n$, где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO:71), где n равно 4. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GSSSS)_n$ (SEQ ID NO:72), где n равно 5. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:205), где n равно 1. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:206), где n равно 2. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:207), где n равно 3. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:208), где n равно 4. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:209), где n равно 5. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность AAAGG (SEQ ID NO:73).

В некоторых случаях линкерный полипептид, присутствующий в первом полипептиде мультимерного полипептида по настоящему изобретению, включает цистеиновый остаток, который может образовывать дисульфидную связь с цистеиновым остатком, присутствующим во втором полипептиде мультимерного полипептида по

настоящему изобретению. В некоторых случаях, например, подходящий линкер содержит аминокислотную последовательность GCGASGGGSGGGGS (SEQ ID NO:74).

Эпитопы

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

Эпитоп, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению, специфически связан с Т-клеткой, то есть, эпитоп специфически связан с эпитоп-специфической Т-клеткой. Эпитоп-специфическая Т-клетка связывает эпитоп, имеющий эталонную аминокислотную последовательность, но по существу не связывает эпитоп, который отличается от эталонной аминокислотной последовательности. Например, эпитоп-специфическая Т-клетка связывает эпитоп, имеющий эталонную аминокислотную последовательность, и связывает эпитоп, который отличается от эталонной аминокислотной последовательности, если вообще его связывает, с аффинностью менее чем 10^{-6} М, менее чем 10^{-5} М или менее чем 10^{-4} М. Эпитоп-специфическая Т-клетка может связывать эпитоп, к которому она специфична, с аффинностью по меньшей мере 10^{-7} М, по меньшей мере 10^{-8} М, по меньшей мере 10^{-9} М или не менее 10^{-10} М.

Подходящие эпитопы включают, но не ограничиваются ими, эпитопы, присутствующие в антигене, связанном с раком. Связанные с раком антигены включают, но не ограничиваются ими, α -фолатный рецептор; карбоангидразу IX (CAIX); CD19; CD20; CD22; CD30; CD33; CD44v7/8; карциноэмбриональный антиген (CEA); эпителиальный гликопротеин-2 (EGP-2); эпителиальный гликопротеин-40 (EGP-40); белок, связывающий фолат (FBP); фетальный ацетилхолиновый рецептор; ганглиозидный антиген GD2; HER2/Neu; IL-13R-a2; легкую цепь каппа; LeY; молекулу клеточной адгезии L1; ассоциированный с меланомой антиген (MAGE); MAGE-A1; мезотелин; MUC1; лиганды NKG2D; онкофетальный антиген (h5T4); антиген стволовых клеток простаты (PSCA); простат-специфический мембранный антиген (PSMA); ассоциированный с

опухолью гликопротеин-72 (TAG-72); и рецептор-2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-R2). См., например, Vigneron et al. (2013) *Cancer Immunity* 13:15; и Vigneron (2015) *BioMed Res. Int'l* Article ID 948501. В некоторых случаях эпитоп представляет собой эпитоп антигена E7 вируса папилломы человека; см., например, Ramos et al. (2013) *J. Immunother.* 36:66.

В некоторых случаях эпитоп представляет собой HPV16E7/82-90 (LLMGTLGIV; SEQ ID NO:75). В некоторых случаях эпитоп представляет собой HPV16E7/86-93 (TLGIVCPI; SEQ ID NO:76). В некоторых случаях эпитоп представляет собой HPV16E7/11-20 (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:77). В некоторых случаях эпитоп представляет собой HPV16E7/11-19 (YMLDLQPET; SEQ ID NO:78). См., например, Rensing et al. ((1995) *J. Immunol.* 154:5934) для дополнительных подходящих эпитопов ПВЧ.

Иммуномодулирующие полипептиды

Подходящие иммуномодулирующие полипептиды включают, но не ограничиваются ими, полипептид IL-2, полипептид 4-1BBL, полипептид B7-1; полипептид B7-2, полипептид ICOS-L, полипептид OX-40L, полипептид CD80, полипептид CD86, полипептид PD-L1, полипептид FasL и полипептид PD-L2.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида PD-L1, изображенного на фиг. 50А или фиг. 50В.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида CD80, изображенного на фиг. 51.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида ICOS-L, изображенного на фиг. 51.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида ICOS-L, изображенного на фиг. 51.

мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида OX40L, изображенного на фиг. 53.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида PD-L2, изображенного на фиг. 54.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида CD86, изображенного на фиг. 55.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью полипептида FAS-L, изображенного на фиг. 56.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид, присутствующий в synTas, проявляет пониженную аффинность связывания с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом, экспрессированным на поверхности Т-клетки, по сравнению с аффинностью связывания иммуномодулирующего полипептида дикого типа для того же распознанного коиммуномодулирующего полипептида. В некоторых случаях, когда synTas содержит иммуномодулирующий полипептид с пониженной аффинностью, полипептид synTas проявляет пониженное связывание с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом, экспрессируемым на поверхности Т-клетки. Например, в некоторых случаях полипептид synTas, который содержит иммуномодулирующий полипептид с пониженной аффинностью, связывает распознанный коиммуномодулирующий полипептид с аффинностью связывания, составляющей по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, а также по меньшей мере на 50% меньше, по меньшей мере на 55% меньше, по меньшей мере на 60% меньше, по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере на 70% меньше, по меньшей мере на 75% меньше, по меньшей мере на 80% меньше, по меньшей мере на 85% меньше, по меньшей мере на 90% меньше, по меньшей мере на 95% меньше или более чем на 95% меньше аффинности связывания контрольного полипептида synTas,

содержащего дикий иммуномодулирующий полипептид типа для того же родственного иммуномодулирующего полипептида.

Определение аффинности связывания

Аффинность связывания между иммуномодулирующим полипептидом и его распознанным коиммуномодулирующим полипептидом может быть определена с помощью биослойной интерферометрии (BLI) с использованием очищенного иммуномодулирующего полипептида и очищенного распознанного коиммуномодулирующего полипептида. Аффинность связывания между synTas по настоящему изобретению и его распознанным коиммуномодулирующим полипептидом также может быть определена с помощью BLI с использованием очищенного synTas и распознанного коиммуномодулирующего полипептида. Способы BLI хорошо известны специалистам в данной области техники. См., например, Lad et al. (2015) *J. Biomol. Screen.* 20(4):498-507; и Shah and Duncan (2014) *J. Vis. Exp.* 18:e51383. Специфические и относительные аффинности связывания, описанные в данном раскрытии, между иммуномодулирующим полипептидом и его распознанным иммуномодулирующим полипептидом или между synTas и его распознанным иммуномодулирующим полипептидом могут быть определены с использованием следующих процедур.

Для определения аффинности связывания между synTas по настоящему изобретению и его распознанным коиммуномодулирующим полипептидом может быть выполнен анализ BLI с использованием прибора Octet RED 96 (Pal FortéBio) или аналогичного прибора, как указано ниже. Для определения аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида (например, synTas по настоящему изобретению или контрольного модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида (где контрольный модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа)), модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид иммобилизуют на нерастворимом носителе («биосенсор»). Иммобилизованный модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид является «мишенью». Иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации захватывающего антитела на нерастворимом носителе, где захватывающее антитело иммобилизует модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид. Например, иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации антител к Fc (например, к человеческому Fc IgG) на нерастворимом носителе, где иммобилизованные антитела к Fc связываются и иммобилизуют модулирующий Т-клетку мультимерный полипептид (где модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид включает полипептид Fc Ig). Коиммуномодулирующий полипептид наносят в нескольких различных концентрациях на

иммобилизованный модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид и регистрируют реакцию прибора. Анализы проводят в жидкой среде, содержащей 25 мМ HEPES с pH 6,8, 5% поли(этиленгликоля) 6000, 50 мМ KCl, 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,02% неионогенного детергента Твин 20. Связывание коиммуномодулирующего полипептида с иммобилизованным модулирующим Т-клетки мультимерным полипептидом проводят при 30°C. В качестве положительного контроля аффинности связывания можно использовать моноклональное антитело к ГКГС класса I. Например, может быть использовано моноклональное антитело к HLA класса I W6/32 (Американская коллекция типовых культур, № HB-95; Parham et al. (1979) *J. Immunol.* 123:342) с K_D 7 нМ. Стандартная кривая может быть получена с использованием серийных разведений моноклонального антитела против ГКГС класса I. Коиммуномодулирующий полипептид или МАТ к ГКГС класса I является «аналитом». BLI анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей: i) от иммобилизованного полипептида («мишень»); и ii) внутреннего эталонного слоя. Изменение количества молекул («аналита»; например, коиммуномодулирующего полипептида; антитела к HLA), связанных с наконечником биосенсора, вызывает изменение интерференционной картины; этот сдвиг в интерференционной картине может быть измерен в реальном времени. Двумя кинетическими терминами, которые описывают сродство взаимодействия мишени и аналита, являются константа ассоциации (k_a) и константа диссоциации (k_d). Соотношение этих двух значений (k_d/a) дает в итоге константу аффинности K_D .

Как отмечено выше, определение аффинности связывания между иммуномодулирующим полипептидом (например, IL-2 или вариантом IL-2) и его распознанным коиммуномодулирующим полипептидом (например, IL-2R) также может быть определено с помощью BLI. Анализ аналогичен описанному выше для мультимерного полипептида synTas. Анализ BLI может быть выполнен с использованием прибора Octet RED 96 (Pal FortéBio) или аналогичного прибора следующим образом. Компонент иммуномодулирующего полипептида synTas по настоящему изобретению (например, вариант полипептида IL-2 по настоящему изобретению); и контрольного иммуномодулирующего полипептида (где контрольный иммуномодулирующий полипептид содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа, например, IL-2 дикого типа) иммобилизуют на нерастворимом носителе («биосенсор»). Иммуномодулирующий полипептид является «мишенью». Иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации захватывающего антитела на нерастворимом носителе, где захватывающее антитело иммобилизует иммуномодулирующий полипептид. Например, если мишень конденсирована с иммуноаффинной меткой

(например, FLAG, Fc человеческого IgG), иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации с помощью соответствующего антитела на иммуноаффинной метке (например, анти-Fc человеческого IgG) на нерастворимом носителе, где иммобилизованные антитела связываются и иммобилизуют иммуномодулирующий полипептид (где иммуномодулирующий полипептид включает полипептид Fc Ig). Коиммуномодулирующий полипептид (или полипептиды) наносят в нескольких различных концентрациях на иммобилизованный иммуномодулирующий полипептид и регистрируют реакцию прибора. Альтернативно, коиммуномодулирующий полипептид (или полипептиды) иммобилизуют в биосенсоре (например, для гетеротримера рецептора IL-2, в качестве мономерной субъединицы, гетеродимерного подкомплекса или полного гетеротримера) и иммуномодулирующий полипептид применяют в нескольких различных концентрациях на иммобилизованный коиммуномодулирующий полипептид, и реакция прибора записывается. Анализы проводят в жидкой среде, содержащей 25 mM HEPES с pH 6,8, 5% поли(этиленгликоля) 6000, 50 mM KCl, 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,02% неионогенного детергента Твин 20. Связывание коиммуномодулирующего полипептида с иммобилизованным полипептидом проводят при 30°C. В качестве положительного контроля аффинности связывания можно использовать моноклональное антитело к ГКГС класса I. Например, может быть использовано моноклональное антитело к HLA класса I W6/32 (Американская коллекция типовых культур, № HB-95; Parham et al. (1979) *J. Immunol.* 123:342) с K_D 7 нМ. Стандартная кривая может быть получена с использованием серийных разведений моноклонального антитела против ГКГС класса I. Коиммуномодулирующий полипептид или МАТ к ГКГС класса I является «аналитом». BLI анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей: i) от иммобилизованного полипептида («мишень»); и ii) внутреннего эталонного слоя. Изменение количества молекул («аналита»; например, коиммуномодулирующего полипептида; антитела к HLA), связанных с наконечником биосенсора, вызывает изменение интерференционной картины; этот сдвиг в интерференционной картине может быть измерен в реальном времени. Двумя кинетическими терминами, которые описывают сродство взаимодействия мишени и аналита, являются константа ассоциации (k_a) и константа диссоциации (k_d). Соотношение этих двух значений (k_d/a) дает в итоге константу аффинности K_D . Определение аффинности связывания иммуномодулирующего полипептида дикого типа (например, IL-2) с его рецептором (например, IL-2R), а также варианта иммуномодулирующего полипептида (например, варианта IL-2, в соответствии с описанным в данном документе) с его распознанным коиммуномодулирующим полипептидом (например, его рецептором)

(например, IL-2R), таким образом позволяет определить относительную аффинность связывания варианта коиммуномодулирующего полипептида по сравнению с коиммуномодулирующим полипептидом дикого типа для распознанного коиммуномодулирующего полипептида. То есть можно определить, снижается ли аффинность связывания варианта иммуномодулирующего полипептида с его рецептором (его распознанным иммуномодулирующим полипептидом) по сравнению с аффинностью связывания иммуномодулирующего полипептида дикого типа с тем же распознанным иммуномодулирующим полипептидом, и, если это так, каково процентное снижение аффинности связывания коиммуномодулирующего полипептида дикого типа.

Анализ BLI проводят на многолуночном планшете. Для проведения анализа определяется схема загрузки планшета, определяются этапы анализа и назначаются биосенсоры в программном обеспечении Octet Data Acquisition. Биосенсорный комплект гидратирован. Гидратированный биосенсорный комплект и планшет для анализа уравнивают в течение 10 минут на приборе Octet. Как только данные получены, полученные данные загружаются в программу анализа данных Octet. Данные обрабатываются в окне Processing (Обработка) путем указания метода вычитания эталона, выравнивания по оси Y, межшаговой коррекции и фильтрации Савицкого-Голея. Данные анализируются в окне анализа путем указания шагов для анализа (ассоциация и диссоциация), выбора модели подбора кривой (1:1), метода подбора (глобального) и окна интереса (в секундах). Оценивается качество подгонки. Значения K_D для каждой кривой данных (концентрация аналита) могут быть усреднены, если они находятся в 3-кратном диапазоне. Значения погрешности K_D должны быть в пределах одного порядка значений константы аффинности; значения R^2 должны быть выше 0,95. См., например, Abdiche et al. (2008) *J. Anal. Biochem.* 377:209.

В некоторых случаях соотношение: i) аффинности связывания контрольного модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида (где контроль включает иммуномодулирующий полипептид дикого типа, например, IL-2 дикого типа) с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом (например, IL-2R) к ii) аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида по настоящему изобретению, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа (например, вариант IL-2) с распознанным иммуномодулирующим полипептидом (например, IL-2R), при измерении с помощью BLI (в соответствии с описанным выше) составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по

меньшей мере $10^2:1$, по меньшей мере $5 \times 10^2:1$, по меньшей мере $10^3:1$, по меньшей мере $5 \times 10^3:1$, по меньшей мере $10^4:1$, по меньшей мере $10^5:1$ или по меньшей мере $10^6:1$. В некоторых случаях соотношение: i) аффинности связывания контрольного модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида (где контроль включает иммуномодулирующий полипептид дикого типа) с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом к ii) аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида по настоящему изобретению, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом, при измерении с помощью BLI находится в диапазоне от $1,5:1$ до $10^6:1$, например, от $1,5:1$ до $10:1$, от $10:1$ до $50:1$, от $50:1$ до $10^2:1$, от $10^2:1$ до $10^3:1$, от $10^3:1$ до $10^4:1$, от $10^4:1$ до $10^5:1$ или от $10^5:1$ до $10^6:1$.

В некоторых случаях соотношение: i) аффинности связывания контрольного иммуномодулирующего полипептида (где контроль включает иммуномодулирующий полипептид дикого типа, например, IL-2 дикого типа) с когнатным коиммуномодулирующим полипептидом (например, IL-2R) к ii) аффинности связывания иммуномодулирующего полипептида по настоящему изобретению, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа (например, вариант IL-2) с родственным иммуномодулирующим полипептидом (например, IL-2R), при измерении с помощью BLI (в соответствии с описанным выше), составляет по меньшей мере $1,5:1$, по меньшей мере $2:1$, по меньшей мере $5:1$, по меньшей мере $10:1$, по меньшей мере $15:1$, по меньшей мере $20:1$, по меньшей мере $25:1$, по меньшей мере $50:1$, по меньшей мере $100:1$, по меньшей мере $500:1$, по меньшей мере $10^2:1$, по меньшей мере $5 \times 10^2:1$, по меньшей мере $10^3:1$, по меньшей мере $5 \times 10^3:1$, по меньшей мере $10^4:1$, по меньшей мере $10^5:1$ или по меньшей мере $10^6:1$. В некоторых случаях соотношение: i) аффинности связывания контрольного иммуномодулирующего полипептида (где контроль включает иммуномодулирующий полипептид дикого типа) с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом к ii) аффинности связывания иммуномодулирующего полипептида по настоящему раскрытию, включающего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа с распознанным коиммуномодулирующим полипептидом, при измерении с помощью BLI, находится в диапазоне от $1,5:1$ до $10^6:1$, например от $1,5:1$ до $10:1$, от $10:1$ до $50:1$, от $50:1$ до $10^2:1$, от $10^2:1$ до $10^3:1$, от $10^3:1$ до $10^4:1$, от $10^4:1$ до $10^5:1$ или от $10^5:1$ до $10^6:1$.

IL-2/synTac

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит IL-2 дикого типа (встречающийся в природе) в качестве модулирующего домена. В некоторых случаях

мультимерный полипептид содержит вариант полипептида IL-2 в качестве модулирующего домена.

Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид, который содержит полипептид IL-2 в качестве домена модуляции («MOD»), также называется «IL-2/synTас», «полипептид IL-2/synTас» или «IL-2/мультимерный полипептид».

В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас содержит полипептид IL-2 дикого типа. В некоторых случаях полипептид synTас содержит одну копию полипептида IL-2 дикого типа. В некоторых случаях полипептид synTас содержит две копии полипептида IL-2 дикого типа. В некоторых случаях полипептид synTас содержит три копии полипептида IL-2 дикого типа. В некоторых случаях полипептид IL-2 дикого типа содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 2А. Аминокислотная последовательность дикого типа полипептида человеческого IL2 может быть следующей: APTSSSTKKT QLQLEEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TEKFYYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEV L NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1).

В некоторых случаях полипептид synTас содержит вариант полипептида IL-2. Вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде, проявляет пониженную аффинность связывания с IL2R по сравнению с аффинностью связывания IL-2 дикого типа с IL2R. Мультимерный полипептид, который содержит вариант полипептида IL-2, также проявляет пониженную аффинность связывания с IL2R по сравнению с контрольным мультимерным полипептидом, содержащим IL-2 дикого типа для IL2R (например, IL2R, содержащий альфа, бета и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С).

В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас проявляет пониженную аффинность связывания с IL2R по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL2, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А для IL2R. Например, в некоторых случаях полипептид IL-2/synTас связывает IL2R с аффинностью связывания, которая меньше, чем аффинность связывания контрольного полипептида synTас, содержащего полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А для IL2R, содержащую альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С. Например, в некоторых случаях полипептид IL-2/synTас связывает IL2R с

аффинностью связывания, составляющей по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, а также по меньшей мере на 50% меньше, по меньшей мере на 55% меньше, по меньшей мере на 60% меньше, по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере на 70% меньше по меньшей мере на 75% меньше, по меньшей мере на 80% меньше, по меньшей мере на 85% меньше, по меньшей мере на 90% меньше, по меньшей мере на 95% меньше или более чем на 95% меньше аффинности связывания контрольного полипептида synTас, содержащего полипептид IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А для IL2R (например, IL2R, содержащий альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С).

В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от 100 нМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет приблизительно от 100 нМ до 500 нМ. Например, в некоторых случаях полипептид IL-2/synTас имеет аффинность связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 100 нМ до примерно 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ от примерно 350 до примерно 400 нМ, от примерно 400 до примерно 450 нМ или от примерно 450 до примерно 500 нМ. В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас обладает аффинностью связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 500 нМ до 1 мкМ. Например, в некоторых случаях полипептид IL-2/synTас имеет аффинность связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ от примерно 700 до примерно 800 нМ, от примерно 800 до примерно 900 нМ или от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ. В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас обладает аффинностью связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 1 мкМ до 10 мкМ. Например, в некоторых случаях полипептид IL-2/synTас

имеет аффинность связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 1 мкМ до 2 мкМ, от примерно 2 мкМ до примерно 3 мкМ, от примерно 3 мкМ до примерно 4 мкМ, от примерно 4 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 6 мкМ, от примерно 6 мкМ до примерно 7 мкМ, от примерно 7 мкМ до примерно 8 мкМ, от примерно 8 мкМ до примерно 9 мкМ или от примерно 9 мкМ до примерно 10 мкМ. В некоторых случаях полипептид IL-2/synTас обладает аффинностью связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 10 мкМ до 100 мкМ. Например, в некоторых случаях полипептид IL-2/synTас имеет аффинность связывания с IL2R (например, IL2R, содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, содержащие аминокислотные последовательности (зрелая форма), изображенные на фиг. 3А–3С), который составляет от примерно 10 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 30 мкМ, от примерно 30 мкМ до примерно 40 мкМ, от примерно 40 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 60 мкМ, от примерно 60 мкМ до примерно 70 мкМ, от примерно 70 мкМ до примерно 80 мкМ, от примерно 80 мкМ до примерно 90 мкМ или от примерно 90 мкМ до примерно 100 мкМ.

Вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде IL-2/synTас, может иметь одну аминокислотную замену относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде IL-2/synTас, имеет от 2 до 10 аминокислотных замен относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTас по настоящему изобретению, имеет 2 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTас по настоящему изобретению, имеет 3 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида

IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 4 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 5 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 6 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 7 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 8 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 9 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1). В некоторых случаях вариант полипептида IL2, присутствующий в полипептиде synTas по настоящему изобретению, имеет 10 аминокислотные замены относительно полипептида IL2 дикого типа (например, полипептид IL2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 2А или как представлено в SEQ ID NO:1).

В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит первый полипептид и второй полипептид, где первый полипептид содержит, в направлении от аминоконца (N-конца) до карбоксильного конца (С-конца): а) эпитоп (например, Т-клеточный эпитоп); б) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) и с) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению); и где второй полипептид содержит, в направлении от N-конца до С-конца: а) второй полипептид ГКГС; и б) полипептид Fc

иммуноглобулина (Ig). В других случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит первый полипептид и второй полипептид, где первый полипептид включает, от N-конца до С-конца: а) эпитоп (например, эпитоп Т-клеток); и б) первый полипептид ГКГС; и где второй полипептид содержит, в порядке от N-конца до С-конца: а) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению); б) второй полипептид ГКГС; и с) полипептид Fc Ig. В некоторых случаях первый и второй полипептиды ГКГС представляют собой полипептиды ГКГС класса I; например, в некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина (B2M или β 2M) ГКГС класса I, а второй полипептид ГКГС представляет собой тяжелую цепь ГКГС класса I (H-цепь); или первый полипептид ГКГС представляет собой цепь H ГКГС класса I, и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2M ГКГС класса I). В других случаях первый и второй полипептиды ГКГС являются полипептидами ГКГС класса II; например, в некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид α -цепи ГКГС класса II, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид β -цепи ГКГС класса II. В других случаях первый полипептид представляет собой полипептид β -цепи ГКГС класса II, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид α -цепи ГКГС класса II. В некоторых случаях мультимерный полипептид включает два или более иммуномодулирующих полипептида, где по меньшей мере один из иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида IL2 по настоящему изобретению. Когда мультимерный полипептид по настоящему изобретению включает два или более иммуномодулирующих полипептида, в некоторых случаях два или более иммуномодулирующих полипептида присутствуют в одной и той же полипептидной цепи и могут находиться в тандеме. Когда мультимерный полипептид по настоящему изобретению включает два или более иммуномодулирующих полипептида, в некоторых случаях два или более иммуномодулирующих полипептида присутствуют в отдельных полипептидах. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему раскрытию представляет собой гетеродимер. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему раскрытию представляет собой тримерный полипептид.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; и ii) полипептид Fc Ig; и iii) иммуномодулирующий домен (например, вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению). В некоторых случаях

мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; и ii) иммуномодулирующий домен (например, вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению). В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) иммуномодулирующий домен (например, вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению); и ii) второй полипептид ГКГС. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) иммуномодулирующий домен (например, вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению); и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС. В некоторых случаях, когда мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит не-Ig-каркас, не-Ig-каркас представляет собой XTEN-пептид, полипептид трансферрина, Fc-рецепторный полипептид, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид, или шелкоподобный эластиноподобный полипептид.

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

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2M; и iii)

вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) полипептид Fc. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: a) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид $\beta 2M$; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; ii) тяжелая цепь ГКГС класса I; и iii) полипептид Fc. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: a) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид $\beta 2M$; iii) первый вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; iv) второй вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; и v) третий вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) полипептид Fc. В некоторых случаях первый, второй и третий вариантные полипептиды IL2 имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый, второй и третий вариантные полипептиды IL2 отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: a) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид $\beta 2M$; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) первый вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; ii) второй вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; и iii) третий вариант полипептида IL2 по настоящему изобретению; iv) тяжелую цепь ГКГС класса I; и v) полипептид Fc. В некоторых случаях первый, второй и третий вариантные полипептиды IL2 имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый, второй и третий вариантные полипептиды IL2 отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности.

Замена F42

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2B, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в

мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2В, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2В, где аминокислота 42 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2В, где аминокислота 42 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2В, где аминокислота 42 представляет собой Val. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2В, где аминокислота 42 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2В, где аминокислота 42 представляет собой Ile. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2,

например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, имеет аффинность связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замена Y45

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой Val. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2F, где аминокислота 45 представляет собой Ile. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2,

например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, имеет аффинность связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замена Q126

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном

полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой Val. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой Leu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2G, где аминокислота 126 представляет собой Ile. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы)

IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42 и H16

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2H, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и где аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2H, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида

IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Н, где аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Н, где аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Н, где аминокислота 42 представляет собой Val, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Н, где аминокислота 42 представляет собой Leu, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в tandem без линкера между двумя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три

копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит 2 копии варианта IL-2, содержащие замены F42A и H16A, где мультимерный полипептид включает полипептиды тяжелой цепи HLA класса I и $\beta 2M$, и где 2 копии IL-2 (F42A, H16A) находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 34В (содержащий замены H16A и F42A).

Замены F42 и D20

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys,

Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой Val, а аминокислота 20 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему

присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой Ala, а аминокислота 20 представляет собой His. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и E15

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность,

имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2J, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и где аминокислота 15 представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 15 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2J, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 15 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2J, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и где аминокислота 15 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2J, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

[illegible]

раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2J, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2J, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2I, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 15 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в tandem без линкера между двумя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и β 2M, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и β 2M, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид β 2M. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в tandem без линкера между тремя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до

примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и H16

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln Lys, Arg, His или Glu; и где аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42

представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Leu, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ile, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему

раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Asn, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2К, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях

мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTas, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и Q126

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2L, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; и где аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В

[illegible]

[illegible]

Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2L, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в tandem без линкера между двумя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в tandem без линкера между тремя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTas, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20 и Y45

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln Lys, Arg, His или Glu; и где аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; и где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2,

[illegible]

аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2М, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, а аминокислота 45 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью

связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F4, D20, Y45 и H16

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; где аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и где аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота

45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gly, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой Val, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Gly и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой

аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2N, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в tandem без линкера между двумя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в tandem без линкера между тремя копиями или в tandem и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTas по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTas, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45 и Q126

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 20, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; где аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и где аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 20, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 20, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной

или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2О, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Asn, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2О, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2О, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2О, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2О, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala и аминокислота 126 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В

некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, D20, Y45, H16 и Q126

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Р, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 20 представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu; где аминокислота 45 представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile,

Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и где аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2P, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2P, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 20 представляет собой Asn, Gln, Lys, Arg или His; где аминокислота 45 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; где аминокислота 126 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile; и где аминокислота 16 представляет собой Ala, Gly, Val, Leu или Ile. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2P, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Ala, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной

меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Р, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Gln, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Р, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Lys, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Р, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой Arg, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Р, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 20 представляет собой His, аминокислота 45 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Ala и аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и

β 2М, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и β 2М, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид β 2М. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий его, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет длину 133 аминокислоты.

Замены F42, Q126 и H16

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Q, где аминокислота 42 представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 42 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu; где аминокислота 126 представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; и где аминокислота 16 представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мер 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной

представляет собой Gly. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Q, где аминокислота 42 представляет собой Ile, аминокислота 126 представляет собой Ala, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Q, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Asp, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Q, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Lys, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Q, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой Arg, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по

меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 2Q, где аминокислота 42 представляет собой Ala, аминокислота 126 представляет собой His, а аминокислота 16 представляет собой Ala. В некоторых случаях единственная копия варианта полипептида IL-2 присутствует в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит две копии варианта полипептида IL-2, например, где две копии находятся в тандеме без линкера между двумя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит три копии варианта полипептида IL-2, например, когда три копии находятся в тандеме без линкера между тремя копиями или в тандеме и разделены линкерным пептидом. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей тяжелую цепь HLA класса I. В некоторых случаях, когда IL-2/synTас по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь HLA класса I и $\beta 2M$, полипептид(-ы) IL-2 находится/находятся на полипептидной цепи, содержащей полипептид $\beta 2M$. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 или synTас, содержащий вариант полипептида IL-2, обладает аффинностью связывания с IL2R, которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет длину 133 аминокислоты.

4-1BBL

В некоторых случаях synTас, подходящий для использования в способе по настоящему изобретению, содержит полипептид 4-1BBL в качестве иммуномодулирующего домена (доменов). Подходящие иммуномодулирующие домены 4-1BBL включают иммуномодулирующий домен дикого типа 4-1BBL и вариант иммуномодулирующего домена 4-1BBL.

Аминокислотная последовательность 4-1BBL дикого типа человека представлена на фиг. 36А. Гомологический домен (THD) фактора некроза опухоли (TNF) человека 4-1BBL включает аминокислоты 81–254, аминокислоты 80–254 или аминокислоты 80–246 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36А. Таким образом, аминокислотная последовательность THD человеческого 4-1BBL дикого типа может представлять собой, например, одну из SEQ ID NO: 213–215, следующим образом:

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:213).

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:214).

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPA (SEQ ID NO:215).

4-1BBL дикого типа связывается с 4-1BB (CD137). Аминокислотная последовательность 4-1BB представлена на фиг. 37. Вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению связывается с 4-1BB с пониженной аффинностью по сравнению со связыванием 4-1BBL дикого типа с 4-1BB.

Вариантные полипептиды 4-1BBL включают полипептиды, имеющие аминокислотную последовательность, которая имеет, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или, по меньшей мере 99% идентичности аминокислотной последовательности с соответствующим полипептидом 4-1BBL дикого типа и включает варианты полипептидов 4-1BBL, которые отличаются на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот или более чем на 15 аминокислот от соответствующего полипептида 4-1BBL дикого типа. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL отличается по аминокислотной последовательности от полипептида 4-1BBL дикого типа только одной аминокислотой. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL отличается по аминокислотной последовательности от полипептида 4-1BBL дикого типа не более чем на 2 аминокислоты. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL отличается по аминокислотной последовательности от полипептида 4-1BBL дикого типа не более чем на 3 аминокислоты. В некоторых случаях вариант

полипептида 4-1BBL отличается по аминокислотной последовательности от полипептида 4-1BBL дикого типа не более чем на 4 аминокислоты. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL отличается по аминокислотной последовательности от полипептида 4-1BBL дикого типа не более чем на 5 аминокислоты.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, проявляет пониженную аффинность связывания с 4-1BB по сравнению с аффинностью связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 36А для 4-1BB. Например, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, связывает 4-1BB с аффинностью связывания, меньшей аффинности связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 36А с полипептидом 4-1BB, содержащим аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 37. Например, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, связывает 4-1BB с аффинностью связывания, которая по меньшей мере на 10% меньше, по меньшей мере на 15% меньше, по меньшей мере на 20% меньше, по меньшей мере на 25% меньше, по меньшей мере на 30% меньше, по меньшей мере на 35% меньше, по меньшей мере на 40% меньше, по меньшей мере на 45% меньше, по меньшей мере на 50% меньше, по меньшей мере на 55% меньше, по меньшей мере на 60% меньше, по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере на 70% меньше, по меньшей мере на 75% меньше, по меньшей мере на 80% меньше, по меньшей мере на 85% меньше, по меньшей мере на 90% меньше, по меньшей мере на 95% меньше или больше чем на 95% меньше аффинности связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 36А для 4-1BB (например, полипептид 4-1BB, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 37).

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, проявляет пониженную аффинность связывания с 4-1BB по сравнению с аффинностью связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную в SEQ ID NO: 213 для 4-1BB. Например, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, связывает 4-1BB с аффинностью связывания, меньшей аффинности связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на SEQ ID NO: 213, для полипептида 4-1BB, содержащего аминокислотную последовательность,

изображенную на одной из фиг. 37А-37С. Например, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, связывает 4-1BB с аффинностью связывания, которая по меньшей мере на 10% меньше, по меньшей мере на 15% меньше, по меньшей мере на 20% меньше, по меньшей мере на 25% меньше, по меньшей мере на 30% меньше, по меньшей мере на 35% меньше, по меньшей мере на 40% меньше, по меньшей мере на 45% меньше, по меньшей мере на 50% меньше, по меньшей мере на 55% меньше, по меньшей мере на 60% меньше, по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере на 70% меньше, по меньшей мере на 75% меньше, по меньшей мере на 80% меньше, по меньшей мере на 85% меньше, по меньшей мере на 90% меньше, по меньшей мере на 95% меньше или больше чем на 95% меньше аффинности связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную в SEQ ID NO: 213, для 4-1BB (например, полипептида 4-1BB, содержащего аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 37).

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет аффинность связывания с 4-1BB, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, обладает аффинностью связывания с 4-1BB (например, полипептидом 4-1BB, содержащим аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 37), которая составляет от примерно 100 нМ до 150 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 500 нМ до примерно 600 нМ, от примерно 600 нМ до примерно 700 нМ, от примерно 700 нМ до примерно 800 нМ, от примерно 800 нМ до примерно 900 нМ, от примерно 900 нМ до примерно 1 мкМ, от примерно 1 мкМ до примерно 5 мкМ, от примерно 5 мкМ до примерно 10 мкМ, от примерно 10 мкМ до примерно 15 мкМ, от примерно 15 мкМ до примерно 20 мкМ, от примерно 20 мкМ до примерно 25 мкМ, от примерно 25 мкМ до примерно 50 мкМ, от примерно 50 мкМ до примерно 75 мкМ или от примерно 75 мкМ до примерно 100 мкМ.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, демонстрирует повышенную выработку в клетке-хозяине млекопитающего по сравнению с выработкой в той же клетке-хозяине млекопитающего контрольного мультимерного полипептида, содержащего полипептид 4-1BBL (например, полипептид 4-1BBL, содержащий аминокислотную

последовательность, изображенную на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO:213). Например, в некоторых случаях вариантный полипептид 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде, при экспрессии в клетке-хозяине млекопитающего вырабатывается в количестве, которое от на 25% выше до примерно на 50% выше, от примерно на 50% выше до примерно на 75% выше, от примерно на 75% выше до примерно в 2 раза выше, от примерно в 2 раза выше до примерно в 5 раз выше, от примерно в 5 раз выше до примерно в 10 раз выше, от примерно в 10 раз выше до примерно в 20 раз выше, от примерно в 20 раз выше до примерно в 30 раз выше, от примерно в 30 раз выше до примерно в 40 раз выше, от примерно в 40 раз выше до примерно в 50 раз выше, от примерно в 50 раз выше до примерно в 75 раз выше, от примерно в 75 раз выше до примерно в 100 раз выше или более чем в 100 раз выше количества контрольного мультимерного полипептида, содержащего полипептид 4-1BBL дикого типа (например, полипептид 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO: 213), полученного в той же клетке-хозяине млекопитающего.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде, вырабатывается в клетке-хозяине млекопитающего в количестве от примерно 50 мг/л до примерно 75 мг/л, от примерно 75 мг/л до примерно 100 мг/л, от примерно 100 мг/л до примерно 150 мг/л, от примерно 150 мг/л до примерно 200 мг/л, от примерно 200 мг/л до примерно 250 мг/л, от примерно 250 мг/л до примерно 500 мг/л или более 500 мг/л. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде, вырабатывается в клетке-хозяине млекопитающего в количестве от примерно 10 мг/л до примерно 15 мг/л, от примерно 15 мг/л до примерно 20 мг/л, от примерно 20 мг/л до примерно 25 мг/л, от примерно 25 мг/л до примерно 30 мг/л, от примерно 35 мг/л до примерно 40 мг/л, от примерно 40 мг/л до примерно 45 мг/л или от примерно 45 мг/л до примерно 50 мг/л.

Вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде, может иметь одну аминокислотную замену относительно полипептида 4-1BBL дикого типа (например, полипептид 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO:213). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет от 2 до 10 аминокислотных замен относительно полипептида 4-1BBL дикого типа (например, полипептид 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность изображенный на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO:213). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в

[illegible]

содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO:213).

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет от 11 до 50 аминокислотных замен относительно полипептида 4-1BBL дикого типа (например, полипептид 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность изображенный на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO:213). Например, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, имеет от 11 до 15, от 15 до 20, от 20 до 25, от 25 до 30, от 30 до 35, от 35 до 40, от 40 до 45 или от 45 до 50 аминокислотных замен относительно полипептида 4-1BBL дикого типа (например, полипептид 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 36А или как представлено в SEQ ID NO:213).

Подходящие варианты полипептидов 4-1BBL, которые могут быть включены в мультимерный полипептид по настоящему изобретению, включают описанные выше.

4-1BBL с заменой K127

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в K48. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в K48. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в K48. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в K48.

Замены K127 + M91

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в M91, где аминокислота 91 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 91 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 11 отличается от метионина, например, где аминокислота 11 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr,

Trp, Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 11 представляет собой Ala.

Замены K127 + F92

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в F92, где аминокислота 92 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 92 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 12 отличается от фенилаланина, например, где аминокислота 12 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 12 представляет собой Ala.

Замены K127 + Q94

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в Q94, где аминокислота 94 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr,

Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 94 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 14 отличается от глутамина, например, где аминокислота 14 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 14 представляет собой Ala.

Замены K127 + L95

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в L95, где аминокислота 95 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 95 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 15 отличается от лейцина, например, где аминокислота 15 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях

аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 15 представляет собой Ala.

Замены K127 + V96

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в V96, где аминокислота 96 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 96 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 16 отлична от валина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 16 представляет собой Ala.

Замены K127 + Q98

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в Q98, где аминокислота 98 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота

127 представляет собой Ala; и аминокислота 98 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 18 отличается от глутамина, например, где аминокислота 18 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 18 представляет собой Ala.

Замены K127 + N99

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в N99, где аминокислота 99 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 99 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 19 отличается от аспарагина, например, где аминокислота 19 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 19 представляет собой Ala.

Замены K127 + V100

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в V100, где аминокислота 100 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 100 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 20 отлична от валина, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 20 представляет собой Ala.

Замены K127 + L101

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в L101, где аминокислота 101 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 101 представляет собой Ala. В

некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 21 отличается от лейцина, например, где аминокислота 21 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 21 представляет собой Ala.

Замены K127 + L102

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в L102, где аминокислота 102 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 102 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 22 отличается от лейцина, например, где аминокислота 22 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 22 представляет собой Ala.

Замена K127 + I103

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в I103, где аминокислота 103 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 103 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 23 отличается от изолейцина, например, где аминокислота 23 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 23 представляет собой Ala.

Замены K127 + D104

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в D104, где аминокислота 104 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 104 представляет собой Ala. В

некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 24 отличается от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 24 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 24 представляет собой Ala.

Замены K127 + G105

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в G105, где аминокислота 105 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 105 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 25 отличается от глицина, например, где аминокислота 25 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 25 представляет собой Ala.

Замены K127 + P106

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в P106, где аминокислота 106 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 106 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 26 отличается от пролина, например, где аминокислота 26 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 26 представляет собой Ala.

Замены K127 + L107

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в L107, где аминокислота 107 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 107 представляет собой Ala. В

некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 27 отличается от лейцина, например, где аминокислота 27 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 27 представляет собой Ala.

Замены K127 + S108

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена на S108, где аминокислота 108 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 108 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 28 отличается от серина, например, где аминокислота 28 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 28 представляет собой Ala.

Замены K127 + W109

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в W109, где аминокислота 109 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 109 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 29 отличается от триптофана, например, где аминокислота 29 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 29 представляет собой Ala.

Замены K127 + Y110

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в Y110, где аминокислота 110 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 110 представляет собой Ala. В

некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 30 отличается от тирозина, например, где аминокислота 30 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 30 представляет собой Ala.

Замены K127 + S111

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена на S111, где аминокислота 111 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 111 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 31 отличается от серина, например, где аминокислота 31 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 31 представляет собой Ala.

Замены K127 + D112

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в D112, где аминокислота 112 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 112 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 32 отличается от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 32 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 32 представляет собой Ala.

Замены K127 + P113

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в P113, где аминокислота 113 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 113 представляет собой Ala. В

некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 33 отличается от пролина, например, где аминокислота 33 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 33 представляет собой Ala.

Замены K127 + G114

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в G114, где аминокислота 114 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 114 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 34 отличается от глицина, например, где аминокислота 34 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 34 представляет собой Ala.

Замены K127 + L115

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где: i) аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислотная замена в L115, где аминокислота 115 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 127 представляет собой Ala; и аминокислота 115 представляет собой Ala. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где: i) аминокислота 47 представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; и ii) аминокислота 35 отличается от лейцина, например, где аминокислота 35 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях аминокислота 47 представляет собой Ala; и аминокислота 35 представляет собой Ala.

4-1BBL с заменой Q227

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36D, где аминокислота 227 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 227 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей

мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 147 отличается от глутамина, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q148. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q148. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q148. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q148.

4-1BBL с заменой M91

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36Е, где аминокислота 91 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от метионина, например, где аминокислота 91 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно

аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 11 отлична от метионина, например, где аминокислота 11 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser Thr, Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в M12. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в M12. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в M12. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в M12.

4-1BBL с заменой F92

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36F, где аминокислота 92 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 92 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где

аминокислота 12 отлична от фенилаланина, например, где аминокислота 12 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F13.

4-1BBL с заменой Q94

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36G, где аминокислота 94 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 94 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 14 отлична от глутамина, например, где аминокислота 14 представляет

собою Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q15. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q15. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q15. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q15.

4-1BBL с заменой L95

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36Н, где аминокислота 95 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 95 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 15 отлична от лейцина, например, где аминокислота 15 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L16. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L16. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L16. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L16.

4-1BBL с заменой V96

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36I, где аминокислота 96 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от валина, например, где аминокислота 96 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 16 отлична от валина, например, где аминокислота 16 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V17. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V17. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V17. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V17.

4-1BBL с заменой Q98

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36J, где аминокислота 98 (обозначена «x») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 98 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 18 отлична от глутамина, например, где аминокислота 18 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q19. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q19. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q19. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q19.

4-1BBL с заменой N99

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36К, где аминокислота 99 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагина, например, где аминокислота 99 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 19 отличается от аспарагина, например, где аминокислота 19 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser Thr, Cys, Met, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в N20. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в N20. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в N20. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в N20.

4-1BBL с заменой V100

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36L, где аминокислота 100 (обозначена «x») представляет собой аминокислоту, отличную от валина, например, где аминокислота 100 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 20 отлична от валина, например, где аминокислота 20 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V21. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL,

присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V21. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V21. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V21.

4-1BBL с заменой L101

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36M, где аминокислота 101 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 101 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 21 отлична от лейцина, например, где аминокислота 21 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L22. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с

аминокислотной заменой в L22. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L22. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L22.

4-1BBL с заменой L102

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36N, где аминокислота 102 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 102 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 22 отлична от лейцина, например, где аминокислота 22 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L23. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L23. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит

аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L23. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L23.

4-1BBL с заменой I103

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36O, где аминокислота 103 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от изолейцина, например, где аминокислота 103 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 23 отлична от изолейцина, например, где аминокислота 23 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в I24. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в I24. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной

последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в I24. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в I24.

4-1BBL с заменой D104

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36P, где аминокислота 104 (обозначена «x») представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 104 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 24 отличается от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 24 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D25. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D25. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%

или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D25. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D25.

4-1BBL с заменой G105

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36Q, где аминокислота 105 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 105 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 25 отлична от глицина, например, где аминокислота 25 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G26. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G26. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G26. В некоторых

случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G26.

4-1BBL с заменой P106

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36R, где аминокислота 106 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от пролина, например, где аминокислота 106 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 26 отлична от пролина, например, где аминокислота 26 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P27. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P27. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P27. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную

в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P27.

4-1BBL с заменой L107

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36S, где аминокислота 107 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 107 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 27 отлична от лейцина, например, где аминокислота 27 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L28. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L28. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L28. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L28.

4-1BBL с заменой S108

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36Т, где аминокислота 108 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 108 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 28 отлична от серина, например, где аминокислота 28 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S29. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S29. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S29. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S29.

4-1BBL с заменой W109

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в

мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36U, где аминокислота 109 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от триптофана, например, где аминокислота 109 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 29 отлична от триптофана, например, где аминокислота 29 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в W30. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в W30. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в W30. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в W30.

4-1BBL с заменой Y110

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36V, где аминокислота 110 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 110 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 30 отлична от тирозина, например, где аминокислота 30 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Y31. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Y31. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Y31. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Y31.

4-1BBL с заменой S111

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36W, где аминокислота 111 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 111 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 31 отлична от серина, например, где аминокислота 31 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S32. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S32. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S32. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S32.

4-1BBL с заменой D112

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36X, где аминокислота 112 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от

аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 112 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 32 отличается от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 32 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D33. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D33. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D33. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D33.

4-1BBL с заменой P113

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36Y, где аминокислота 113 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от пролина, например, где аминокислота 113 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe,

Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 33 отлична от пролина, например, где аминокислота 33 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P34. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P34. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P34. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P34.

4-1BBL с заменой G114

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36Z, где аминокислота 114 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 114 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по

настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 34 отлична от глицина, например, где аминокислота 34 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G35. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G35. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G35. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G35.

4-1BBL с заменой L115

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36AA, где аминокислота 115 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 115 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере

мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 35 отлична от лейцина, например, где аминокислота 35 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L36. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L36. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L36. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L36.

4-1BBL с заменой G117

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36BB, где аминокислота 117 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 117 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где

аминокислота 37 отлична от глицина, например, где аминокислота 37 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G38. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G38. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G38. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G38.

4-1BBL с заменой V118

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36СС, где аминокислота 118 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от валина, например, где аминокислота 118 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 38 отлична от валина, например, где аминокислота 38 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V39. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V39. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V39. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V39.

4-1BBL с заменой S119

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36DD, где аминокислота 119 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 119 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 39 отлична от серина, например, где аминокислота 39 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S40. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S40. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S40. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S40.

4-1BBL с заменой L120

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36ЕЕ, где аминокислота 120 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 120 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 40 отлична от лейцина, например, где аминокислота 40 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L41. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L41. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L41. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L41.

4-1BBL с заменой T121

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36FF, где аминокислота 121 (обозначена «x») представляет собой аминокислоту, отличную от треонина, например, где аминокислота 121 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 41 отлична от треонина, например, где аминокислота 41 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T42. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL,

присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T42. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T42. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T42.

4-1BBL с заменой G122

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36GG, где аминокислота 122 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 122 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 42 отлична от глицина, например, где аминокислота 42 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G43. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с

аминокислотной заменой в G43. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G43. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G43.

4-1BBL с заменой G123

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36НН, где аминокислота 123 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 123 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 43 отлична от глицина, например, где аминокислота 43 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr Cys, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G44. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G44. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит

аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G44. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G44.

4-1BBL с заменой L124

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36II, где аминокислота 124 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 124 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 44 отлична от лейцина, например, где аминокислота 44 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L45. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L45. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%

или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L45. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L45.

4-1BBL с заменой S125

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36JJ, где аминокислота 125 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 125 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 45 отлична от серина, например, где аминокислота 45 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S46. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S46. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S46. В некоторых случаях

вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S46.

4-1BBL с заменой Y126

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36KK, где аминокислота 126 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от тирозина, например, где аминокислота 126 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 46 отлична от тирозина, например, где аминокислота 46 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Y47. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Y47. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Y47. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную

в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Y47.

4-1BBL с заменой E128

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36LL, где аминокислота 128 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 128 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 48 отличается от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 48 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E49. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E49. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E49. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E49.

4-1BBL с заменой D129

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36MM, где аминокислота 129 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 129 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 49 отличается от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 49 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D50. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D50. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D50. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D50.

4-1BBL с заменой T130

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36NN, где аминокислота 130 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от треонина, например, где аминокислота 130 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 50 отлична от треонина, например, где аминокислота 50 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T51. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T51. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T51. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T51.

4-1BBL с заменой K131

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в

мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3600, где аминокислота 131 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 131 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 51 отлична от лизина, например, где аминокислота 51 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в K52. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в K52. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в K52. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в K52.

4-1BBL с заменой E132

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36PP, где аминокислота 132 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 132 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 52 отличается от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 52 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E53. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E53. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E53. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E53.

4-1BBL с заменой F144

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36QQ, где аминокислота 144 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 144 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 64 отлична от фенилаланина, например, где аминокислота 64 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F65. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F65. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F65. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F65.

4-1BBL с заменой F145

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36RR, где

аминокислота 145 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 145 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 65 отлична от фенилаланина, например, где аминокислота 65 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F66. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F66. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F66. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F66.

4-1BBL с заменой Q146

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36SS, где аминокислота 146 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от

глутамина, например, где аминокислота 146 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 66 отлична от глутамина, например, где аминокислота 66 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q67. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q67. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q67. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q67.

4-1BBL с заменой L147

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36ТТ, где аминокислота 147 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe,

Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 67 отлична от лейцина, например, где аминокислота 67 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L68. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L68. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L68. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L68.

4-1BBL с заменой E148

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36UU, где аминокислота 148 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 148 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по

настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 68 отличается от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 68 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E69. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E69. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E69. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E69.

4-1BBL с заменой L149

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36VV, где аминокислота 149 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 149 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую

идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 69 отлична от лейцина, например, где аминокислота 69 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L70. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L70. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L70. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L70.

4-1BBL с заменой R150

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36WW, где аминокислота 150 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аргинина, например, где аминокислота 150 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно

аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 70 отлична от аргинина, например, где аминокислота 70 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R71. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R71. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R71. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R71.

4-1BBL с заменой R151

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36XX, где аминокислота 151 (обозначена «x») представляет собой аминокислоту, отличную от аргинина, например, где аминокислота 151 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 71 является отличной от аргинина, например, где аминокислота 71

представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R72. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R72. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R72. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R72.

4-1BBL с заменой V152

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36YY, где аминокислота 152 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от валина, например, где аминокислота 152 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 72 отлична от валина, например, где аминокислота 72 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V73. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V73. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V73. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V73.

4-1BBL с заменой V153

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36ZZ, где аминокислота 153 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от валина, например, где аминокислота 153 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 73 отлична от валина, например, где аминокислота 73 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V74. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V74. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V74. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V74.

4-1BBL с заменой G155

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36AAA, где аминокислота 155 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 155 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 75 отлична от глицина, например, где аминокислота 75 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G76. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G76. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G76. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G76.

4-1BBL с заменой E156

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36BBB, где аминокислота 156 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 156 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 76 отличается от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 76 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:

214, с аминокислотной заменой в E77. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E77. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E77. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E77.

4-1BBL с заменой G157

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36CCC, где аминокислота 157 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 157 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 77 отлична от глицина, например, где аминокислота 77 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G78. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит

аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G78. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G78. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G78.

4-1BBL с заменой S158

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36DDD, где аминокислота 158 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 158 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 78 отлична от серина, например, где аминокислота 78 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S79. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S79. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL,

присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S79. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S79.

4-1BBL с заменой D184

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36EEE, где аминокислота 184 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 184 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 104 отличается от аспарагиновой кислоты, например, где аминокислота 104 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D105. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в D105. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит

аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D105. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в D105.

4-1BBL с заменой L185

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36FFF, где аминокислота 185 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 185 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 105 отлична от лейцина, например, где аминокислота 105 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L106. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L106. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной

последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L106. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L106.

4-1BBL с заменой P186

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36GGG, где аминокислота 186 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от пролина, например, где аминокислота 186 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 106 отлична от пролина, например, где аминокислота 106 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P107. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P107. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%

или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P107. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P107.

4-1BBL с заменой P187

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36ННН, где аминокислота 187 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от пролина, например, где аминокислота 187 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 107 отлична от пролина, например, где аминокислота 107 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P108. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в P108. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P108. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в P108.

4-1BBL с заменой S189

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36III, где аминокислота 189 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 189 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 109 отлична от серина, например, где аминокислота 109 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S110. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S110. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S110. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по

настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S110.

4-1BBL с заменой S190

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36JJ, где аминокислота 190 (обозначена «x») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 190 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 110 отлична от серина, например, где аминокислота 110 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S111. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S111. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S111. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S111.

4-1BBL с заменой E191

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36KKK, где аминокислота 191 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 191 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 111 отличается от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 111 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E112. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E112. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E112. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E112.

4-1BBL с заменой R193

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36LLL, где аминокислота 193 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аргинина, например, где аминокислота 193 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 113 отличается от аргинина, например, где аминокислота 113 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R114. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R114. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R114. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R114.

4-1BBL с заменой N194

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36MMM, где аминокислота 194 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аспарагина, например, где аминокислота 194 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 114 отличается от аспарагина, например, где аминокислота 114 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser Thr, Cys, Met, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в N115. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в N115. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в N115. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в N115.

4-1BBL с заменой S195

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36NNN, где аминокислота 195 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от серина, например, где аминокислота 195 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 115 отлична от серина, например, где аминокислота 115 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S116. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в S116. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S116. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в S116.

4-1BBL с заменой F197

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в

мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36000, где аминокислота 197 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от фенилаланина, например, где аминокислота 197 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 117 отлична от фенилаланина, например, где аминокислота 117 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F118. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в F118. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F118. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в F118.

4-1BBL с заменой Q210

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36PPP, где аминокислота 210 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 210 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 130 отлична от глутамина, например, где аминокислота 130 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q131. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q131. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q131. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q131.

4-1BBL с заменой R211

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36QQQ, где аминокислота 211 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аргинина, например, где аминокислота 211 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 131 отлична от аргинина, например, где аминокислота 131 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R132. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R132. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R132. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R132.

4-1BBL с заменой L212

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36RRR, где аминокислота 212 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 212 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 132 отлична от лейцина, например, где аминокислота 132 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L133. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L133. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L133. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L133.

4-1BBL с заменой G213

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36SSS, где

аминокислота 213 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 213 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 133 отлична от глицина, например, где аминокислота 133 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G134. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G134. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G134. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G134.

4-1BBL с заменой V214

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36ТТТ, где аминокислота 214 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от

валина, например, где аминокислота 214 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 134 отлична от валина, например, где аминокислота 134 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V135. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V135. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V135. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V135.

4-1BBL с заменой H215

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36UUU, где аминокислота 215 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 215 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях

вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 135 отличается от гистидина, например, где аминокислота 135 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в H136. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в H136. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в H136. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в H136.

4-1BBL с заменой L216

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36VVV, где аминокислота 216 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 216 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по

настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 136 отлична от лейцина, например, где аминокислота 136 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L137. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L137. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L137. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L137.

4-1BBL с заменой H217

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36WWW, где аминокислота 217 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 217 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую

идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 137 отличается от гистидина, например, где аминокислота 137 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в H138. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в H138. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в H138. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в H138.

4-1BBL с заменой T218

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36XXX, где аминокислота 218 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от треонина, например, где аминокислота 218 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере

мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 138 отлична от треонина, например, где аминокислота 138 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T139. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T139. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T139. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T139.

4-1BBL с заменой E219

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36YYY, где аминокислота 219 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 219 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно

аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 139 отличается от глутаминовой кислоты, например, где аминокислота 139 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His или Asp.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E140. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в E140. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E140. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в E140.

4-1BBL с заменой R221

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36ZZZ, где аминокислота 221 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аргинина, например, где аминокислота 221 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где

аминокислота 141 отлична от аргинина, например, где аминокислота 141 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R142. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R142. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R142. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R142.

4-1BBL с заменой R223

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36AAAA, где аминокислота 223 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от аргинина, например, где аминокислота 223 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 143 отлична от аргинина, например, где аминокислота 143 представляет

собою Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R144. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в R144. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R144. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в R144.

4-1BBL с заменой H224

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36BBBB, где аминокислота 224 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от гистидина, например, где аминокислота 224 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 144 отличается от гистидина, например, где аминокислота 144 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, Asp

или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в H145. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в H145. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в H145. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в H145.

4-1BBL с заменой W226

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36CCCC, где аминокислота 226 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от триптофана, например, где аминокислота 226 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 146 отлична от триптофана, например, где аминокислота 146 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в W147. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в W147. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в W147. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в W147.

4-1BBL с заменой L228

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36DDDD, где аминокислота 228 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лейцина, например, где аминокислота 228 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 148 отлична от лейцина, например, где аминокислота 148 представляет собой Gly, Ala, Val, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в

мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L149. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в L149. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L149. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в L149.

4-1BBL с заменой T229

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36EEEE, где аминокислота 229 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от треонина, например, где аминокислота 229 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 149 отлична от треонина, например, где аминокислота 149 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную

последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T150. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T150. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T150. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T150.

4-1BBL с заменой Q230

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36FFFF, где аминокислота 230 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 230 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 150 отлична от глутамина, например, где аминокислота 150 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по

меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q151. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в Q151. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q151. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в Q151.

4-1BBL с заменой G231

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36GGGG, где аминокислота 231 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глицина, например, где аминокислота 231 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 151 отлична от глицина, например, где аминокислота 151 представляет собой Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере

99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G152. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в G152. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G152. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в G152.

4-1BBL с заменой T233

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36НННН, где аминокислота 233 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от треонина, например, где аминокислота 233 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 153 отлична от треонина, например, где аминокислота 153 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:

214, с аминокислотной заменой в T154. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в T154. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T154. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в T154.

4-1BBL с заменой V234

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36III, где аминокислота 234 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от валина, например, где аминокислота 234 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 213, где аминокислота 154 отлична от валина, например, где аминокислота 154 представляет собой Gly, Ala, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V155. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию,

содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 214, с аминокислотной заменой в V155. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V155. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL, присутствующий в мультимерном полипептиде по настоящему раскрытию, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 215, с аминокислотной заменой в V155.

Типичные мультимерные полипептиды, содержащие иммуномодулирующий полипептид 4-1BBL

Примерные мультимерные полипептиды, которые подходят для использования в способе по настоящему изобретению, описаны ниже.

K127

В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2M; и iii) вариант полипептида 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 36В, где аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; или вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в K47, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln Arg, His, Asp или Glu; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) полипептид Fc. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид β 2M; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) вариант полипептида 4-1BBL,

содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; или вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в K47, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu;

ii) тяжелая цепь ГКГС класса I; и iii) полипептид Fc. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2M; iii) первый вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; iv) второй вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; и v) третий вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) полипептид Fc. В некоторых случаях каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; например, каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в K47, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Встретил, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид β 2M; и b) второй полипептид,

содержащий в направлении от N-конца до C-конца: i) первый вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; ii) второй вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; и iii) третий вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; iv) тяжелую цепь ГКГС класса I; и v) полипептид Fc. В некоторых случаях каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36B, где аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; например, каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в K47, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Встретил, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену M91 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену F92 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену Q94 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L95 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену V96 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену Q98 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену N99 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену V100 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L101 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L102 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену I103 (на

основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену D104 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену G105 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену P106 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L107 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену S108 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену W109 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену Y110 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену S111 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену D112 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену P113 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену G114 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L115 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36А).

В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид β 2М; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) первый вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; ii) линкер; iii) второй вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; iv) линкер; v) третий вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; vi) тяжелую цепь ГКГС класса I; и vii) полипептид Fc. В некоторых случаях каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36В, где аминокислота 127 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от лизина, например, где аминокислота 127 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu; например, каждый из первого, второго и

третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в K47, например, где аминокислота 47 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GSSSS) n (SEQ ID NO: 131), где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления n равно 4. В некоторых вариантах осуществления n равно 5. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену M91 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену F92 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену Q94 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L95 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену V96 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену Q98 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену N99 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену V100 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L101 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L102 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену I103 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену D104 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену G105 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену P106 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L107 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену S108 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант

полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену W109 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену Y110 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену S111 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену D112 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену P113 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену G114 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A). В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL содержит замену K127 и замену L115 (на основе нумерации, изображенной на фиг. 36A).

Q227

В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2M; и iii) вариант полипептида 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 36D, где аминокислота 227 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 227 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; или вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в Q147, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys Arg, His, Asp или Glu; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) полипептид Fc. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид β 2M; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) вариант полипептида 4-1BBL, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность

аминокислотной последовательности относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36D, где аминокислота 227 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 227 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; или вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в Q147, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys Arg, His, Asp или Glu; ii) тяжелая цепь ГКГС класса I; и iii) полипептид Fc. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2M; iii) первый вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; iv) второй вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; и v) третий вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) тяжелую цепь ГКГС класса I; и ii) полипептид Fc. В некоторых случаях каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36D, где аминокислота 227 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 227 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; или каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в Q147, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид β 2M; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) первый вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; ii) второй вариант полипептида 4-1BBL по настоящему

изобретению; и iii) третий вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; iv) тяжелую цепь ГКГС класса I; и v) полипептид Fc. В некоторых случаях каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36D, где аминокислота 227 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 227 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; или каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в Q147, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu.

В некоторых случаях мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; и ii) полипептид $\beta 2M$; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) первый вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; ii) линкер; iii) второй вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; iv) линкер; v) третий вариант полипептида 4-1BBL по настоящему изобретению; vi) тяжелую цепь ГКГС класса I; и vii) полипептид Fc. В некоторых случаях каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% относительно аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 36D, где аминокислота 227 (обозначена «х») представляет собой аминокислоту, отличную от глутамина, например, где аминокислота 227 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu; или каждый из первого, второго и третьего варианта полипептидов 4-1BBL содержит аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 213, с аминокислотной заменой в Q147, например, где аминокислота 147 представляет собой Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Tyr, Trp, Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Lys, Arg, His, Asp или Glu. В некоторых случаях линкер

содержит последовательность (GSSSS) n (SEQ ID NO: 131), где n равно 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GSSSS) n (SEQ ID NO: 131), где n равно 4. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GSSSS) n (SEQ ID NO: 131), где n равно 5. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GGGGS) n, где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GGGGS) n, где n равно 2. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GGGGS) n, где n равно 3. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GGGGS) n, где n равно 4. В некоторых случаях линкер содержит последовательность (GGGGS) n, где n равно 5.

Несколько иммуномодулирующих доменов

Как отмечено выше, в некоторых случаях мультимерный полипептид содержит два или более иммуномодулирующих полипептида. В некоторых случаях по меньшей мере один из двух или более иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида. Например, в случае IL-2/synTas, в некоторых случаях, по меньшей мере один из двух или более иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант полипептида IL-2. В качестве другого примера, в случае 4-1BBL/synTas, в некоторых случаях по меньшей мере один из двух или более иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант полипептида 4-1BBL.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит две или более копии варианта полипептида IL-2 по настоящему изобретению. В некоторых случаях два или более варианта полипептидов IL-2 находятся в одной и той же полипептидной цепи мультимерного полипептида. В некоторых случаях два или более варианта полипептидов IL-2 находятся в отдельных полипептидных цепях мультимерного полипептида.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит первый иммуномодулирующий полипептид и по меньшей мере второй иммуномодулирующий полипептид, где первый иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2 по настоящему изобретению, а второй иммуномодулирующий полипептид не является полипептидом IL-2. Например, в некоторых случаях второй иммуномодулирующий полипептид является членом суперсемейства фактора некроза опухоли (TNF); например, полипептид FasL, полипептид 4-1BBL, полипептид CD40, полипептид OX40L, полипептид CD30L, полипептид CD70 и т.д. В некоторых случаях второй иммуномодулирующий полипептид мультимерного полипептида является полипептидом-костимулятором Т-клеток и является членом суперсемейства иммуноглобулинов (Ig); например, полипептид CD7, полипептид CD86, полипептид ICAM и т.д. В некоторых случаях вторым иммуномодулирующим полипептидом является

4-1BBL, OX40L, ICOS-L, ICAM, PD-L1, CD86, FasL и PD-L2. Подходящие иммуномодулирующие полипептиды мультимерного полипептида по настоящему изобретению включают, например, CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептор лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4 или HVEM.

Дополнительные модулирующие Т-клетки домены (MOD), которые могут быть включены в мультимерный полипептид по настоящему изобретению, включают встречающиеся в природе или синтетические генные продукты человека (белок), аффинные реагенты (например, антитело, фрагмент антитела, одноцепочечные Fvs, аптамеры, нанотело), нацеливающиеся на генный продукт человека, включая, но не ограничиваясь ими, все секретируемые белки, возникающие в результате классических и неклассических (например, FGF2, IL1, S100A4) механизмов секреции, и экто-домены всех белков клеточной поверхности, закрепленных посредством естественных генетически кодированных белковых сегментов (монотопических или политопических мембранных) или посттрансляционные модификации, такие как связи GPI). Любой природный или синтетический реагент аффинности (например, антитело, фрагмент антитела, одноцепочечные Fv, аптамер, нанотело, лектин и т.д.), нацелен на гликан клеточной поверхности или другую посттрансляционную модификацию (например, сульфатированные участки). Примеры включают, но не ограничиваются ими, членов семейства TNF/TNFR (OX40L, ICOSL, FASL, LTA, LTB TRAIL, CD153, TNFSF9, RANKL, TWEAK, TNFSF13, TNFSF13b, TNFSF14, TNFSF15, TNFSF18, CD40LG, CD70) или аффинные реагенты, направленные на членов семейства TNF/TNFR; членов суперсемейства иммуноглобулинов (VISTA, PD1, PD-L1, PD-L2, B71, B72, CTLA4, CD28, TIM3, CD4, CD8, CD19, цепи рецепторов Т-клеток, ICOS, лиганд ICOS, HHLA2, бутирофилины, BTLA, B7-H3, B7-H4, CD3, CD79a, CD79b, IgSF CAMS (включая CD2, CD58, CD48, CD150, CD229, CD244, ICAM-1), лейкоцитарные иммуноглобулиноподобные рецепторы (LILR), иммуноглобулиноподобные рецепторы клеток-киллеров (KIR)), членов суперсемейства лектинов, селектины, рецепторы цитокинов/хемокинов и цитокинов/хемокинов, факторы роста и рецепторы факторов роста, молекулы адгезии (интегрины, фибронектины, кадгерины) или экто-домены политопических интегральных мембранных белков или реагенты аффинности, направленные на суперсемейство иммуноглобулинов и перечисленные генные продукты. А также активные гомологи/ортологи таких генных продуктов, включая, но не ограничиваясь ими, вирусные последовательности (например, CMV, EBV), бактериальные последовательности, грибковые последовательности, эукариотические патогены (например, *Schistosoma*, *Plasmodium*, *Babesia*, *Eimeria*, *Theileria*, *Toxoplasma*), *Entamoeba*,

Leishmania и *Trypanosoma*) и извлеченные у млекопитающих области кодирования. Кроме того, MOD может содержать лекарственное средство с малыми молекулами, нацеленное на генный продукт человека.

Дополнительные полипептиды

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

Эпитопные метки

Подходящие эпитопные метки включают, но не ограничиваются ими, гемагглютинин (HA; например, YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 79); FLAG (например, DYKDDDDK (SEQ ID NO: 80); c-мус (например, EQKLISEEDL; SEQ ID NO) : 81) и тому подобное.

Аффинные домены

Аффинные домены включают пептидные последовательности, которые могут взаимодействовать с партнером по связыванию, например, с таким, который иммобилизован на твердой подложке, такой партнер пригоден для идентификации и очистки. Последовательности ДНК, кодирующие множество последовательных одноцепочечных аминокислот, таких как гистидин, при конденсации с экспрессируемым белком могут применяться для осуществления одностадийной очистки рекомбинантного белка путем связывания с высокой аффинностью с колонкой со смолой, такой как никель-сефароза. К примерам аффинных доменов относятся His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:82), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:83), C-мус (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:81), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:80), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:84), гемагглютинин, например, HA-метка (YPYDVPDYA; SEQ ID NO:79), глутатион-S-трансфераза (GST), тиоредоксин, целлюлозосвязывающий домен, RYIRS (SEQ ID NO:85), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:86), хитин-связывающий домен, S-пептид, T7-пептид, SH2-домен, C-концевая РНК-метка, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:87), металлсвязывающие домены, например, цинк-связывающие домены или кальций-связывающие домены, такие как полученные от кальций-связывающих белков, например, кальмодулин, тропонин С, кальциневрин В, легкая цепь миозина, реоверин, S-модулин, визинин, VILIP, нейрокальцин, гиппокальцин, фриквенин, центрин, большие субъединицы кальпаина,

S100-белки, парвальбумин, кальбиндин D9K, кальбиндин D28K и кальренин, интеины, биотин, стрептавидин, MyoD, последовательности с лейциновыми застёжками и мальтоза-связывающий белок.

Примеры IL-2/мультимерных полипептидов

Ниже приведены неограничивающие варианты осуществления мультимерного полипептида IL-2/synTas, подходящего для применения в способе лечения по настоящему изобретению.

В некоторых случаях мультимерный полипептид IL-2/synTas содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2-микроглобулина (β 2M), содержащий аминокислотную последовательность, изображённую на фиг. 34A; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) вариант полипептида IL-2 по настоящему изобретению; ii) полипептид тяжелой цепи основного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображённую на фиг. 34C; и iii) полипептид Fc IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 содержит замену H16A и F42A. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену N297A. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену L234A и замену L235A. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F и замену L235E. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S. В некоторых случаях второй полипептид содержит две копии варианта полипептида IL-2. В некоторых случаях первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2M-полипептидом. В некоторых случаях второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из: а) первой копией варианта полипептида IL-2 и второй копией варианта полипептида IL-2; b) вариантом полипептида IL-2 и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; и c) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и полипептидом Fc IgG1. В некоторых случаях пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃ (SEQ ID NO:207), (GGGGS)₄ (SEQ ID NO:208) и AAAGG (SEQ ID NO:73). В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33B. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33C. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33D.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп; ii) полипептид β 2-

микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34А; и b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца: i) вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34В; ii) полипептид тяжелой цепи основного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34С; и iii) полипептид Fc IgG1, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену N297A. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену L234A и замену L235A. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F и замену L235E. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33В. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33С. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33D. В некоторых случаях второй полипептид содержит две копии варианта полипептида IL-2. В некоторых случаях первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом. В некоторых случаях второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из: a) первой копией варианта полипептида IL-2 и второй копией варианта полипептида IL-2; b) вариантом полипептида IL-2 и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; и c) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и полипептидом Fc IgG1. В некоторых случаях пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃ (SEQ ID NO:207), (GGGGS)₄ (SEQ ID NO:208) и AAAGG (SEQ ID NO:73).

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: a) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) эпитоп, содержащий аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 77) ; ii) полипептид β 2-микроглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34А; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34В; ii) полипептид тяжелой цепи основного комплекса гистосовместимости (ГКГС), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34С; и iii) полипептид Fc IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33А, 33В, 33С или 33D. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33В. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную

последовательность, представленную на фиг. 33C. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33D. В некоторых случаях второй полипептид содержит две копии варианта полипептида IL-2. В некоторых случаях первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М-полипептидом. В некоторых случаях второй полипептид содержит пептидный линкер между одним или несколькими из: а) первой копией варианта полипептида IL-2 и второй копией варианта полипептида IL-2; б) вариантом полипептида IL-2 и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; и с) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и полипептидом Fc IgG1. В некоторых случаях пептидный линкер выбран из (GGGGS)₃ (SEQ ID NO:207), (GGGGS)₄ (SEQ ID NO:208) и AAAGG (SEQ ID NO:73). В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33B. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33C. В некоторых случаях полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 33D.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 31; и б) второй полипептид, содержащий аминокислотный эквивалент, изображенный на фиг. 22.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 31; и б) второй полипептид, содержащий аминокислотный эквивалент, изображенный на фиг. 25.

В некоторых случаях мультимерный полипептид содержит: а) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 31; и аб) второй полипептид, содержащий аминокислотный эквивалент, изображенный на фиг. 28.

Составы, дозы и пути введения

При осуществлении способа лечения по настоящему изобретению, synTas может быть составлен в композиции, содержащей фармацевтически приемлемый наполнитель, и ингибитор иммунной контрольной точки может быть составлен в композиции, содержащей фармацевтически приемлемый наполнитель. Для простоты термин «действующее вещество» используется ниже для обозначения synTas или ингибитора иммунной контрольной точки. В общем, synTas и ингибитор иммунной контрольной точки присутствуют в отдельных композициях.

Композиция может содержать фармацевтически приемлемый наполнитель, большое разнообразие которых известно в данной области и не нуждается в подробном обсуждении в данном документе. Фармацевтически приемлемые наполнители были

подробно описаны в различных публикациях, включая, например, «Remington: The Science and Practice of Pharmacy», 19th Ed. (1995), или последнее издание, Mack Publishing Co; A. Gennaro (2000) «Remington: The Science and Practice of Pharmacy», 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; and Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Фармацевтическая композиция может содержать synTas или ингибитор иммунной контрольной точки и фармацевтически приемлемый наполнитель. В некоторых случаях фармацевтическая композиция будет подходящей для введения субъекту, например, будет стерильной. Например, в некоторых случаях фармацевтическая композиция будет подходящей для введения человеку, например, когда композиция является стерильной и не содержит обнаруживаемых пирогенов и/или других токсинов.

Композиции могут включать другие компоненты, такие как маннит, лактозу, крахмал, стеарат магния, натрий сахарин, тальк, целлюлозу, глюкозу, сукрозу, карбонат магния и т.п. фармацевтического качества. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения их к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH агенты и буферные агенты, регулирующие токсичность агенты и тому подобное, например ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия, гидрохлориды, сульфаты, сольваты (например, смешанные ионные соли, вода, органические вещества), гидраты (например, вода) и тому подобное.

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

Когда действующее вещество (synTas или ингибитор иммунной контрольной точки) вводят в виде инъекций (например, подкожно, внутривенно, внутримышечно и/или внутривенно) непосредственно в ткань, состав может быть предоставлен в виде готовой к употреблению лекарственной формы или в виде неводной формы (например, восстанавливаемого стабильного при хранении порошка) или в виде водной формы, такой как жидкость, состоящая из фармацевтически приемлемых носителей и наполнителей. Композиции также могут быть предоставлены с возможностью увеличить период полувыведения действующего вещества из сыворотки после введения. Например, белок может быть представлен в виде липосомной композиции, приготовленной в виде коллоида, или в соответствии с другими общепринятыми методами для увеличения

периода полувыведения в сыворотке. Для получения липосом доступно множество способов, как описано, например, в Szoka et al. 1980 *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9467, патенты США №№ 4 235 871, 4 501 728 и 4 837 028. Препараты могут также предоставляться в формах с контролируемым высвобождением или в форме с медленным высвобождением.

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

Концентрация действующего вещества (synTas или ингибитор иммунной контрольной точки) в препарате может широко варьироваться (например, от менее чем примерно 0,1%, как правило от 2% или по меньшей мере примерно 2% до от 20% до 50% или более по массе) и обычно выбирается в основном на основе объемов жидкости, вязкости и факторов, связанных с пациентом, в соответствии с выбранным конкретным способом введения и потребностями пациента.

Настоящее раскрытие обеспечивает контейнер, содержащий действующее вещество (synTas или ингибитор иммунной контрольной точки), например контейнер, содержащий жидкую композицию, содержащую действующее вещество. Контейнер может представлять собой, например, шприц, ампулу и тому подобное. В некоторых случаях контейнер стерилен. В некоторых случаях контейнер и композиция стерильны.

Настоящее раскрытие относится к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащим действующее вещество (synTas или ингибитор иммунной контрольной точки). Композиция может содержать: а) действующее вещество (synTas или ингибитор иммунной контрольной точки); и b) наполнитель, в соответствии с описанным выше. В некоторых вариантах осуществления наполнитель представляет собой фармацевтически приемлемый наполнитель.

Композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии

В некоторых случаях synTас вводится как мультимерный полипептид как таковой. В других случаях вместо введения synTас в виде мультимерного полипептида как такового вводится одна или несколько нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие synTас. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в фармацевтической композиции. Фармацевтическая композиция может содержать один или несколько рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих одну или несколько нуклеиновых кислот. В данной области техники известно широкое разнообразие фармацевтически приемлемых наполнителей, и нет необходимости подробно обсуждать их в данном документе. Фармацевтически приемлемые наполнители были подробно описаны в различных публикациях, включая, например, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; и Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Фармацевтическая композиция может включать нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по настоящему изобретению в количестве от примерно 0,001% до примерно 90% (мас./мас.). В описании составов ниже термин «нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии» будет пониматься как включающий нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие synTас.

Нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии могут быть смешаны, инкапсулированы, конъюгированы или иным образом связаны с другими соединениями или смесями соединений; такие соединения могут включать, например, липосомы или молекулы-рецепторы. Нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии можно комбинировать в составе с одним или несколькими компонентами, которые способствуют поглощению, распределению и/или абсорбции.

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

натрийкарбоксиметилцеллюлозу, сорбит и/или декстран. Суспензия также может содержать стабилизаторы.

Композиция, содержащая нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии, может представлять собой липосомную композицию. Используемый в данном документе термин «липосома» означает везикулу, состоящую из амфифильных липидов, расположенных двухслойно в виде сферы или двухслойно. Липосомы представляют собой однослойные или многослойные везикулы, которые имеют мембрану, образованную из липофильного материала, и водную внутреннюю часть, которая содержит композицию для доставки. Катионные липосомы представляют собой положительно заряженные липосомы, которые могут взаимодействовать с отрицательно заряженными молекулами ДНК с образованием стабильного комплекса. Считается, что липосомы, чувствительные к рН или отрицательно заряженные, захватывают ДНК, а не образуют с ней комплексы. Как катионные, так и некаатионные липосомы могут быть использованы для доставки рассматриваемой нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии.

Липосомы также включают в себя «стерически стабилизированные» липосомы, термин, который при использовании в настоящем документе относится к липосомам, содержащим один или несколько специализированных липидов, которые при включении в липосомы приводят к увеличению продолжительности циркуляции по сравнению с липосомами, в которых отсутствуют такие специализированные липиды. Примерами стерически стабилизированных липосом являются те, в которых часть образующей везикулы липидной части липосомы содержит один или несколько гликолипидов или дериватизирована одним или несколькими гидрофильными полимерами, такими как фрагмент полиэтиленгликоля (PEG). Липосомы и их применение дополнительно описаны в пат. № 6,287,860, включенным в данный документ в полном объеме путем ссылки.

Композиции и композиции по настоящему изобретению могут также включать поверхностно-активные вещества. Использование поверхностно-активных веществ в лекарственных продуктах, составах и эмульсиях хорошо известно в данной области. Поверхностно-активные вещества и их применение дополнительно описаны в пат. № 6,287,860.

В одном варианте осуществления включены различные усилители проникающей способности для эффективной доставки нуклеиновых кислот. Помимо содействия диффузии нелипофильных лекарств через клеточные мембраны, усилители проникающей способности также увеличивают проникающую способность липофильных лекарств. Усилители проникающей способности могут быть классифицированы как принадлежащие к одной из пяти широких категорий, т.е. поверхностно-активные вещества, жирные

кислоты, желчные соли, хелатирующие агенты и нехелатирующие не-ПАВ. Усилители проникающей способности и их применение дополнительно описаны в патенте США № 6,287,860, включенным в данный документ в полном объеме путем ссылки.

Композиции и составы для перорального введения включают порошки или гранулы, микрочастицы, наночастицы, суспензии или растворы в воде или неводной среде, капсулы, гелевые капсулы, саше, таблетки или минитаблетки. Могут быть желательны загустители, вкусоароматизаторы, разбавители, эмульгаторы, диспергирующие добавки или связующие вещества. Подходящие пероральные препараты включают препараты, в которых указанную антисмысловую нуклеиновую кислоту вводят в сочетании с одним или несколькими усилителями проникновения, поверхностно-активными веществами и хелаторами. Подходящие поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваются ими, жирные кислоты и/или сложные эфиры или их соли, желчные кислоты и/или их соли. Подходящие желчные кислоты/соли и жирные кислоты и их применение дополнительно описаны в патенте США No. № 6,287,860. Также подходящими являются комбинации усилителей проникающей способности, например, жирных кислот/солей в сочетании с желчными кислотами/солями. Примером подходящей комбинации является натриевая соль лауриновой кислоты, каприновой кислоты и УДХК. Другие усилители проникающей способности включают, но не ограничиваются ими, полиоксиэтилен-9-лауриловый эфир и полиоксиэтилен-20-цетиловый эфир. Подходящие усилители проникающей способности также включают пропиленгликоль, диметилсульфоксид, триэтаноамин, N, N-диметилацетамид, N, N-диметилформамид, 2-пирролидон и его производные, тетрагидрофуруриловый спирт и AZONE™.

Способы лечения

Настоящее раскрытие обеспечивает способ лечения, включающий введение synTas и ингибитора иммунной контрольной точки. В некоторых случаях способ включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом: а) первой композиции, содержащей synTas; и b) второй композиции, содержащей ингибитор иммунной контрольной точки. В некоторых случаях способ лечения по настоящему изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом: а) первой композиции, содержащей один или несколько рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие synTas; и b) второй композиции, содержащей ингибитор иммунной контрольной точки. В некоторых случаях способ лечения по настоящему изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом: а) первой композиции, содержащей одну или несколько молекул мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид; и b) второй

композиции, содержащей ингибитор иммунной контрольной точки. В некоторых случаях ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к полипептиду иммунной контрольной точки.

Таким образом, например, способ лечения по настоящему изобретению может включать совместное введение synTas (например, synTas 4-1BBL, synTas IL-2 и т.д. в соответствии с описанным выше) и антитела, специфического к иммунной контрольной точке. Под «совместным введением» подразумевается, что индивидууму вводят как synTas (например, synTas 4-1BBL, synTas IL-2 и т.д., в соответствии с описанным выше), так и антитело, специфическое к контрольной иммунной точке, хотя необязательно в одно и то же время, для достижения терапевтического эффекта, который является результатом применения как synTas, так и ингибитора иммунной контрольной точки. Введение synTas (например, synTas 4-1BBL, synTas IL-2 и т.д.) и антитела, специфического к иммунной контрольной точке, может быть по существу одновременным, например, synTas (например, synTas 4-1BBL, IL-2 synTas и т.д.) может быть введен индивидууму в течение от примерно 1 минуты до примерно 24 часов (например, в течение примерно 1 минуты, в течение примерно 5 минут, в течение примерно 15 минут, в течение примерно 30 минут, в течение примерно 1 часа, в течение примерно 4 часа, в течение примерно 8 часов, в течение примерно 12 часов или в течение примерно 24 часов) относительно введения антитела, специфического к иммунной контрольной точке. В некоторых случаях synTas (например, synTas 4-1BBL, synTas IL-2 и т.д.) вводят индивидууму, который подвергается лечению антителом, специфическим к иммунной контрольной точке. Введение synTas (например, synTas 4-1BBL, synTas IL-2 и т.д.) и антитела, специфического к иммунной контрольной точке, может происходить в разное время и/или с разной частотой.

Таким образом, например, способ лечения по настоящему изобретению может включать совместное введение synTas 4-1BBL и антитела, специфического к иммунной контрольной точке. Под «совместным введением» подразумевается, что индивидууму вводят synTas 4-1BBL и антитело, специфическое к контрольной иммунной точке, хотя необязательно в одно и то же время, для достижения терапевтического эффекта, который является результатом применения как synTas, так и ингибитора иммунной контрольной точки. Введение synTas 4-1BBL и антитела, специфического к иммунной контрольной точке, может быть по существу одновременным, например, synTas 4-1BBL может быть введен индивидууму в течение от примерно 1 минуты до примерно 24 часов (например, в течение примерно 1 минуты, в течение примерно 5 минут, в течение примерно 15 минут, в течение примерно 30 минут, в течение примерно 1 часа, в течение примерно 4 часа, в течение примерно 8 часов, в течение примерно 12 часов или в течение примерно 24 часов)

относительно введения антитела, специфического к иммунной контрольной точке. В некоторых случаях synTas 4-1BBL вводят индивидууму, который подвергается лечению антителом, специфическим к иммунной контрольной точке. Введение synTas 4-1BBL и антитела, специфического к иммунной контрольной точке, может происходить в разное время и/или с разной частотой.

В качестве другого примера, способ лечения по настоящему изобретению может включать совместное введение synTas (например, synTas IL-2, в соответствии с описанным выше) и антитела, специфического к иммунной контрольной точке. Под «совместным введением» подразумевается, что индивидууму вводят synTas IL-2 и антитело, специфическое к контрольной иммунной точке, хотя необязательно в одно и то же время, для достижения терапевтического эффекта, который является результатом применения как synTas, так и ингибитора иммунной контрольной точки. Введение synTas IL-2 и антитела, специфического к иммунной контрольной точке, может быть по существу одновременным, например, synTas IL-2 может быть введен индивидууму в течение от примерно 1 минуты до примерно 24 часов (например, в течение примерно 1 минуты, в течение примерно 5 минут, в течение примерно 15 минут, в течение примерно 30 минут, в течение примерно 1 часа, в течение примерно 4 часа, в течение примерно 8 часов, в течение примерно 12 часов или в течение примерно 24 часов) относительно введения антитела, специфического к иммунной контрольной точке. В некоторых случаях synTas IL-2 вводят индивидууму, который подвергается лечению антителом, специфическим к иммунной контрольной точке. Введение synTas IL-2 и антитела, специфического к иммунной контрольной точке, может происходить в разное время и/или с разной частотой.

Настоящее раскрытие обеспечивает способ лечения, включающий введение synTas и ингибитора иммунной контрольной точки. Способ лечения по настоящему изобретению может модулировать активность Т-клетки-мишени. В некоторых случаях, например, когда Т-клеткой-мишенью является $CD8^+$ Т-клетка, мультимерный полипептид содержит полипептиды ГКГС класса I (например, $\beta 2$ -микроглобулин и тяжелую цепь ГКГС класса I). В некоторых случаях, например, когда Т-клеткой-мишенью является $CD4^+$ Т-клетка, мультимерный полипептид содержит полипептиды ГКГС класса II (например, α -цепь ГКГС класса II; β -цепь ГКГС класса II).

Когда мультимерный полипептид включает иммуномодулирующий полипептид, который является активирующим полипептидом, способ по настоящему изобретению активирует эпитоп-специфическую Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему

в раковой клетке, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с мультимерным полипептидом увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к раковой клетке. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему в раковой клетке, и способ по настоящему изобретению увеличивает количество эпитоп-специфических Т-клеток.

В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на зараженной вирусом клетке, и способ по настоящему изобретению увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к зараженной вирусом клетке. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему в инфицированной вирусом клетке, и способ по настоящему изобретению увеличивает количество эпитоп-специфических Т-клеток.

Когда мультимерный полипептид по настоящему изобретению включает иммуномодулирующий полипептид, который представляет собой ингибирующий полипептид, способ по настоящему изобретению ингибирует эпитоп-специфическую Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой самореактивную Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему в аутоантигене, и способ по настоящему изобретению уменьшает количество самореактивных Т-клеток.

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

В некоторых случаях способ лечения по настоящему изобретению лечит рак у индивидуума, имеющего рак. Таким образом, настоящее раскрытие обеспечивает способ лечения рака у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму: а) мультимерного полипептида по настоящему изобретению или одной или нескольких нуклеиновых кислот (например, векторов экспрессии; мРНК и т.д.) содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, где мультимерный полипептид содержит эпитоп Т-клеток, который является эпитопом рака, и где мультимерный полипептид содержит стимулирующий иммуномодулирующий полипептид; и б) ингибитор иммунной контрольной точки. В некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или

нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшают количество раковых клеток в индивидууме. Например, в некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшают количество раковых клеток у индивидуума по меньшей мере по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% по сравнению с количеством раковых клеток у индивидуума до введения мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки или в отсутствие введения мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки. В некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшают количество раковых клеток в индивидууме до неопределимых уровней. В некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшают массу опухоли у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или нескольких дозах индивидууму, нуждающемуся в этом, уменьшают массу опухоли у индивидуума по меньшей мере по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% по сравнению с массой опухоли у индивидуума до введения мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки или в отсутствие введения мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки. В некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму увеличивают время выживания индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективные количества» мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки представляют собой количества, которые при введении в одной или нескольких дозах нуждающемуся в этом индивидууму

увеличивают время выживания индивидуума по меньшей мере на 1 месяц, по меньшей мере на 2 месяца, по меньшей мере на 3 месяца, от 3 месяцев до 6 месяцев, от 6 месяцев до 1 года, от 1 года до 2 лет, от 2 лет до 5 лет, от 5 лет до 10 лет или более 10 лет по сравнению с ожидаемым временем выживания индивидуума в отсутствие введения мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки.

В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему на зараженной вирусом клетке, и способ по настоящему изобретению увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к зараженной вирусом клетке. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична к эпитопу, присутствующему в инфицированной вирусом клетке, и способ по настоящему изобретению увеличивает количество эпитоп-специфических Т-клеток.

Как отмечено выше, в некоторых случаях при осуществлении способа лечения субъекта мультимерный полипептид вводят индивидууму, нуждающемуся в этом, в виде полипептида *как такового*. В других случаях при осуществлении способа лечения субъекта одну или несколько нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид, вводят индивидууму, нуждающемуся в этом. Таким образом, в других случаях индивидууму, нуждающемуся в этом, вводят одну или несколько нуклеиновых кислот, кодирующих synTas.

Дозы — synTas

Подходящие дозы synTas может определить лечащий врач или другой квалифицированный медицинский персонал на основании различных клинических показателей. Как хорошо известно в медицине, дозы для любого пациента зависят от многих факторов, включая размеры пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретный вводимый полипептид или нуклеиновая кислота, пол пациента, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие вводимые одновременно препараты. Мультимерный полипептид (synTas) может быть введен в количествах от 1 нг/кг массы тела до 20 мг/кг массы тела, например, от 0,1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, например, от 0,5 мг/кг массы тела до 5 мг/кг массы тела; однако подразумеваются дозы ниже и выше этого приведенного в качестве примера диапазона, в особенности учитывая вышеприведенные факторы. Если схема представляет собой непрерывную инфузию, дозы также могут быть в диапазоне от 1 мкг до 10 мг на килограмм массы тела в минуту. Мультимерный полипептид может быть введен в количестве от примерно 1 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела, например, от примерно 1 мг/кг массы тела до примерно 5 мг/кг массы тела, от примерно 5 мг/кг. кг массы тела до примерно 10 мг/кг массы тела, от

примерно 10 мг/кг массы тела до примерно 15 мг/кг массы тела, от примерно 15 мг/кг массы тела до примерно 20 мг/кг массы тела, от примерно 20 мг/кг массы тела до примерно 25 мг/кг массы тела, от примерно 25 мг/кг массы тела до примерно 30 мг/кг массы тела, от примерно 30 мг/кг массы тела до примерно 35 мг/кг массы тела, от примерно 35 мг/кг массы тела до около 40 мг/кг массы тела или от примерно 40 мг/кг массы тела до примерно 50 мг/кг массы тела.

В некоторых случаях подходящая доза мультимерного полипептида составляет от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела. Специалисты в данной области могут легко оценить частоту повторения для дозирования на основании измеренного времени удержания и концентраций введенного агента в жидкостях или тканях организма. После успешного лечения может оказаться желательным прохождение пациентом поддерживающей терапии для предотвращения рецидива болезненного состояния, при котором мультимерный полипептид вводят в поддерживающих дозах в диапазоне от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела.

Специалистам будет очевидно, что уровни дозы могут варьироваться в виде функции конкретного мультимерного полипептида, тяжести симптомов и склонности субъекта к побочным эффектам. Специалисты в данной области техники могут легко определить предпочтительные дозы указанного соединения с помощью различных средств.

В некоторых вариантах осуществления вводят множественные дозы мультимерного полипептида (или нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии, кодирующего их). Частота введения мультимерного полипептида может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например тяжести симптомов и т.д. Например, в некоторых вариантах мультимерный полипептид вводится один раз в месяц, два раза в месяц, три раза в месяц, каждую вторую неделю (qow), один раз в неделю (qw), два раза в неделю (biw), три раза в неделю (tiw), четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, через день (qod), ежедневно (qd), два раза в день (qid) или три раза в день (tid).

Продолжительность введения мультимерного полипептида, например период времени, в течение которого вводится мультимерный полипептид, может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например реакции пациента и т.д.

Например, мультимерный полипептид может быть введен в течение периода времени, составляющего от одного дня до одной недели, от двух недель до четырех недель, от одного месяца до двух месяцев, от двух месяцев до четырех месяцев, от четырех месяцев до шести месяцев, от примерно шести месяцев до примерно восьми месяцев, от примерно восьми месяцев до примерно 1 года, от примерно 1 года до примерно 2 лет или от примерно 2 лет до примерно 4 лет или более.

Подходящие дозы synTas может определить лечащий врач или другой квалифицированный медицинский персонал на основании различных клинических показателей. Как хорошо известно в медицине, дозы для любого пациента зависят от многих факторов, включая размеры пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретный вводимый полипептид или нуклеиновая кислота, пол пациента, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие вводимые одновременно препараты. Мультимерный полипептид (synTas) может быть введен в количествах от 1 нг/кг массы тела до 20 мг/кг массы тела, например, от 0,1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, например, от 0,5 мг/кг массы тела до 5 мг/кг массы тела; однако подразумеваются дозы ниже и выше этого приведенного в качестве примера диапазона, в особенности учитывая вышеприведенные факторы. Если схема представляет собой непрерывную инфузию, дозы также могут быть в диапазоне от 1 мкг до 10 мг на килограмм массы тела в минуту. Мультимерный полипептид может быть введен в количестве от примерно 1 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела, например, от примерно 1 мг/кг массы тела до примерно 5 мг/кг массы тела, от примерно 5 мг/кг. кг массы тела до примерно 10 мг/кг массы тела, от примерно 10 мг/кг массы тела до примерно 15 мг/кг массы тела, от примерно 15 мг/кг массы тела до примерно 20 мг/кг массы тела, от примерно 20 мг/кг массы тела до примерно 25 мг/кг массы тела, от примерно 25 мг/кг массы тела до примерно 30 мг/кг массы тела, от примерно 30 мг/кг массы тела до примерно 35 мг/кг массы тела, от примерно 35 мг/кг массы тела до около 40 мг/кг массы тела или от примерно 40 мг/кг массы тела до примерно 50 мг/кг массы тела.

В некоторых случаях подходящая доза мультимерного полипептида составляет от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела. Специалисты в данной области могут легко оценить частоту повторения для дозирования на основании измеренного времени удержания и концентраций введенного агента в жидкостях или тканях организма. После успешного лечения может оказаться желательным прохождение пациентом поддерживающей терапии для предотвращения рецидива болезненного состояния, при котором

мультимерный полипептид вводят в поддерживающих дозах в диапазоне от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела.

Специалистам будет очевидно, что уровни дозы могут варьироваться в виде функции конкретного мультимерного полипептида, тяжести симптомов и склонности субъекта к побочным эффектам. Специалисты в данной области техники могут легко определить предпочтительные дозы указанного соединения с помощью различных средств.

В некоторых вариантах осуществления вводят множественные дозы мультимерного полипептида (или нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии, кодирующего их). Частота введения мультимерного полипептида может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например тяжести симптомов и т.д. Например, в некоторых вариантах мультимерный полипептид вводится один раз в месяц, два раза в месяц, три раза в месяц, каждую вторую неделю (qow), один раз в неделю (qw), два раза в неделю (biw), три раза в неделю (tiw), четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, через день (qod), ежедневно (qd), два раза в день (qid) или три раза в день (tid).

Продолжительность введения мультимерного полипептида, например период времени, в течение которого вводится мультимерный полипептид, может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например реакции пациента и т.д. Например, мультимерный полипептид может быть введен в течение периода времени, составляющего от одного дня до одной недели, от двух недель до четырех недель, от одного месяца до двух месяцев, от двух месяцев до четырех месяцев, от четырех месяцев до шести месяцев, от примерно шести месяцев до примерно восьми месяцев, от примерно восьми месяцев до примерно 1 года, от примерно 1 года до примерно 2 лет или от примерно 2 лет до примерно 4 лет или более.

Дозы — ингибитор иммунной контрольной точки

Подходящие дозы ингибитора иммунной контрольной точки может определить лечащий врач или другой квалифицированный медицинский персонал на основании различных клинических показателей. Как хорошо известно в медицине, дозы для любого пациента зависят от многих факторов, включая размеры пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретный вводимый полипептид или нуклеиновая кислота, пол пациента, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие вводимые одновременно препараты. Ингибитор иммунной контрольной точки может быть введен в количествах от

1 нг/кг массы тела до 20 мг/кг массы тела, например, от 0,1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, например, от 0,5 мг/кг массы тела до 5 мг/кг массы тела; однако подразумеваются дозы ниже и выше этого приведенного в качестве примера диапазона, в особенности учитывая вышеприведенные факторы. Если схема представляет собой непрерывную инфузию, дозы также могут быть в диапазоне от 1 мкг до 10 мг на килограмм массы тела в минуту. Ингибитор иммунной контрольной точки может быть введен в количестве от примерно 1 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела, например, от примерно 1 мг/кг массы тела до примерно 5 мг/кг массы тела, от примерно 5 мг/кг массы тела до примерно 10 мг/кг массы тела, от примерно 10 мг/кг массы тела до примерно 15 мг/кг массы тела, от примерно 15 мг/кг массы тела до примерно 20 мг/кг массы тела, от примерно 20 мг/кг массы тела до примерно 25 мг/кг массы тела, от примерно 25 мг/кг массы тела до примерно 30 мг/кг массы тела, от примерно 30 мг/кг массы тела до примерно 35 мг/кг массы тела, от примерно 35 мг/кг массы тела до примерно 40 мг/кг массы тела или от примерно 40 мг/кг массы тела до примерно 50 мг/кг массы тела.

В некоторых случаях подходящая доза ингибитора иммунной контрольной точки составляет от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела. Специалисты в данной области могут легко оценить частоту повторения для дозирования на основании измеренного времени удержания и концентраций введенного агента в жидкостях или тканях организма. После успешного лечения может оказаться желательным прохождение пациентом поддерживающей терапии для предотвращения рецидива болезненного состояния, при котором ингибитор иммунной контрольной точки вводят в поддерживающих дозах в диапазоне от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела, от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела.

Специалистам будет очевидно, что уровни дозы могут варьироваться в виде функции конкретного ингибитора иммунной контрольной точки, тяжести симптомов и склонности субъекта к побочным эффектам. Специалисты в данной области техники могут легко определить предпочтительные дозы указанного соединения с помощью различных средств.

В некоторых вариантах осуществления вводят множественные дозы ингибитора иммунной контрольной точки. Частота введения ингибитора иммунной контрольной точки может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например

тяжести симптомов и т.д. Например, в некоторых вариантах мультимерный полипептид вводится один раз в месяц, два раза в месяц, три раза в месяц, каждую вторую неделю (qow), один раз в неделю (qw), два раза в неделю (biw), три раза в неделю (tiw), четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, через день (qod), ежедневно (qd), два раза в день (qid) или три раза в день (tid).

Продолжительность введения ингибитора иммунной контрольной точки, например, период времени, в течение которого вводится ингибитор иммунной контрольной точки, может варьироваться в зависимости от любого из множества факторов, например реакции пациента и т.д. Например, ингибитор иммунной контрольной точки может быть введен в течение периода времени, составляющего от примерно одного дня до примерно одной недели, от примерно двух недель до примерно четырех недель, от примерно одного месяца до примерно двух месяцев, от примерно двух месяцев до примерно четырех месяцев, от примерно четырех месяцев до примерно шести месяцев, от примерно шести месяцев до примерно восьми месяцев, от примерно восьми месяцев до примерно 1 года, от примерно 1 года до примерно 2 лет или от примерно 2 лет до примерно 4 лет или более.

Далее приводятся неограничивающие примеры.

Пембролизумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 2 мг/кг каждые 3 недели. Пембролизумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 200 мг каждые 3 недели. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению предусматривает уменьшение количества анти-PD1, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта. Например, в некоторых случаях количество пембролизумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта, может быть уменьшено на 10–50% или более чем на 50% по сравнению с количеством пембролизумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта при отсутствии лечения с помощью synTas.

Ниволумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 3 мг/кг каждые 2 недели. Ниволумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 240 мг каждые 2 недели. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению предусматривает уменьшение количества анти-PD1, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта. Например, в некоторых случаях количество ниволумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта, может быть уменьшено на 10–50% или более чем на 50% по сравнению с количеством ниволумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта при отсутствии лечения с помощью synTas.

Атезолизумаб может вводиться нуждающемуся в этом индивидууму в количестве

1200 мг каждые 3 недели. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению предусматривает уменьшение количества анти-PD1, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта. Например, в некоторых случаях количество атезолизумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта, может быть уменьшено на 10–50% или более чем на 50% по сравнению с количеством атезолизумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта при отсутствии лечения с помощью synTas.

Ипилимумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 3 мг/кг каждые 3 недели. Ипилимумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 10 мг/кг каждые 3 недели. Ипилимумаб может быть введен нуждающемуся в этом индивидууму в количестве 10 мг/кг каждые 12 недели. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению предусматривает уменьшение количества анти-PD1, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта. Например, в некоторых случаях количество ипилимумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта, может быть уменьшено на 10–50% или более чем на 50% по сравнению с количеством ипилимумаба, которое необходимо вводить для достижения клинического эффекта при отсутствии лечения с помощью synTas.

Пути введения

Действующее вещество (мультимерный полипептид; ингибитор иммунной контрольной точки) вводят индивидууму с использованием любого доступного способа и пути, подходящего для доставки лекарственного средства, включая методы *in vivo* и *ex vivo*, а также системные и локальные пути введения. В некоторых случаях synTas вводят первым путем введения; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят вторым путем введения, который отличается от первого пути введения. В некоторых случаях synTas и ингибитор иммунной контрольной точки вводят одинаковыми путями введения.

Обычные и фармацевтически приемлемые пути введения включают внутриопухолевое, перитуморальное, внутримышечное, внутритрахеальное, внутрочерепное, подкожное, внутрикожное, местное, внутривенное, внутриартериальное, ректальное, назальное, пероральное и другие энтеральные и парентеральные пути введения. Пути введения можно при необходимости комбинировать или корректировать в зависимости от мультимерного полипептида, ингибитора иммунной контрольной точки и/или желаемого эффекта.

В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутривенно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутривенно. В некоторых случаях мультимерный

полипептид вводят внутримышечно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутримышечно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят местно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят местно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутриопухолево; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутриопухолево. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят перитуморально; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят перитуморально. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутрочерепно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутрочерепно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят подкожно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят подкожно.

В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутривенно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят перитуморально. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутримышечно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутривенно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят системно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят местно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутриопухолево; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутривенно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводится системно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят перитуморально. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят внутривенно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутривенно. В некоторых случаях мультимерный полипептид вводят подкожно; и ингибитор иммунной контрольной точки вводят внутривенно.

Мультимерный полипептид и ингибитор иммунной контрольной точки могут быть введены хозяину с использованием любых доступных традиционных способов и путей, подходящих для доставки традиционных лекарственных препаратов, включая системные или локальные пути. В общем, пути введения, предполагаемые для использования в способе по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, энтеральный, парентеральный и ингаляционный пути.

Парентеральные пути введения, отличные от ингаляционного введения, включают, но не ограничиваются ими, местный, трансдермальный, подкожный, внутримышечный, внутриорбитальный, внутрикапсулярный, внутриспинальный, внутриопухолевый, перитуморальный и внутривенный, т.е. любой путь введения, кроме как через пищеварительный канал. Парентеральное введение может осуществляться для системной или местной доставки действующего вещества (synTas или ингибитора иммунной контрольной точки). Если желательна системная доставка, введение может

включать внутривенную доставку.

Подходящие для лечения субъекты

Субъекты, подходящие для лечения способом по настоящему изобретению, включают индивидуумов, у которых есть рак, включая индивидуумов, у которых был диагностирован рак, индивидуумов, которых лечили от рака, но которые не показали ответа на лечение, и индивидуумов, которых лечили от рака и который первоначально показали ответ на лечение, но впоследствии стали невосприимчивы к лечению. Субъекты, подходящие для лечения способом по настоящему изобретению, включают индивидуумов, у которых есть инфекция (например, инфекция патогеном, таким как бактерия, вирус, простейшее и т.д.), включая индивидуумов, у которых была диагностирована инфекция, и индивидуумов, которые проходили лечение от инфекции, но которые не показали ответа на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по настоящему изобретению, включают индивидуумов, у которых есть бактериальная инфекция, включая индивидуумов, у которых была диагностирована бактериальная инфекция, и индивидуумов, которые получали лечение от бактериальной инфекции, но которые не показали ответа на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по настоящему изобретению, включают индивидуумов, у которых есть вирусная инфекция, включая индивидуумов, у которых была диагностирована вирусная инфекция, и индивидуумов, которые получали лечение от вирусной инфекции, но которые не показали ответа на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по настоящему изобретению, включают индивидуумов, у которых имеется аутоиммунное заболевание, включая индивидуумов, у которых диагностировано аутоиммунное заболевание, и индивидуумов, которые получали лечение от аутоиммунного заболевания, но которые не показали ответа на лечение.

В некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTas индивидууму, который подвергается лечению ингибитором иммунной контрольной точки. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTas индивидууму, который подвергается лечению антителом к PD1. Например, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTas индивидууму, который подвергается лечению пембролизумабом. В качестве другого примера, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTas индивидууму, который подвергается лечению ниволумабом. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTas индивидууму, который подвергается лечению антителом к PD-L1. Например, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTas индивидууму, который

подвергается лечению атезолизумабом. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTас индивидууму, который подвергается лечению антителом к CTLA4. Например, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTас индивидууму, который подвергается лечению ипилимумабом. В качестве другого примера, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает введение synTас индивидууму, который подвергается лечению тремелиумабом.

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

Способы селективной доставки индивидууму костимулирующего полипептида вместе с ингибитором иммунной контрольной точки

Настоящее раскрытие, таким образом, обеспечивает способ доставки костимулирующего полипептида, такого как IL-2, или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимулирующего полипептида, такого как вариант IL-2, раскрытого в настоящем документе, в выбранную Т-клетку или выбранную популяцию Т-клеток, например, таким образом, что он нацелен на TCR, специфический к данному эпитопу, вместе с одновременным введением ингибитора контрольной точки, чтобы обеспечить пациенту терапевтический эффект как селективной доставки костимулирующего полипептида, так и ингибитора контрольной точки. Настоящее раскрытие обеспечивает способ доставки костимулирующего полипептида, такого как IL-2, или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимулирующего полипептида, такого как вариант IL-2, раскрытого в данном документе, селективно в Т-клетку-мишень, несущую TCR, специфический к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде по настоящему изобретению, вместе с совместным введением ингибитора контрольной точки, чтобы обеспечить пациенту терапевтический эффект как селективной доставки костимулирующего полипептида, так и ингибитора контрольной точки. Способ включает контактирование популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по настоящему изобретению. Популяция Т-клеток может представлять собой смешанную популяцию, которая включает: i) Т-клетку-мишень; и ii) Т-клетки, не являющиеся мишенями, которые не являются специфическими к эпитопу (например, Т-клетки специфические к эпитопам, отличным от эпитопа, с которым

связывается специфическая к эпитопу Т-клетка). Эпитоп-специфическая Т-клетка специфична к эпитоп-презентирующему пептиду, присутствующему в мультимерном полипептиде, и связывается с пептидным комплексом HLA или пептидным комплексом ГКГС, обеспечиваемым мультимерным полипептидом. Контактное взаимодействие популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом доставляет костимулирующий полипептид (например, IL-2 или вариант IL-2 с пониженной аффинностью), присутствующий в мультимерном полипептиде, избирательно к Т-клеткам, которые специфичны к эпитопу, презентируемому в мультимерном полипептиде. Ингибитор контрольной точки вводят совместно с мультимерным полипептидом (либо вместе, либо в другое время до и/или после введения мультимерного полипептида), чтобы обеспечить пациенту терапевтический эффект селективной доставки как костимулирующего полипептида, так и ингибитора контрольной точки.

Таким образом, настоящее раскрытие обеспечивает способ доставки пациенту (i) ингибитора контрольной точки, в соответствии с описанным выше, и (ii) костимулирующий полипептид, такой как IL-2, или вариант с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимулирующего полипептида, такой как вариант IL-2, раскрытый в данном документе, или комбинацию обоих, селективно по отношению к Т-клетке-мишени, причем способ включает контактирование смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по настоящему изобретению. Смешанная популяция Т-клеток включает Т-клетки-мишени и Т-клетки, не являющиеся мишенями. Т-клетка-мишень специфична к эпитопу, присутствующему в мультимерном полипептиде. Контактное взаимодействие смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по настоящему изобретению доставляет костимулирующий полипептид, присутствующий в мультимерном полипептиде, в Т-клетку-мишень. Таким образом, совместное введение ингибитора контрольной точки с мультимерным полипептидом (вместе или в другое время до и/или после введения мультимерного полипептида) обеспечивает пациенту терапевтический эффект селективной доставки как костимулирующего полипептида, так и ингибитора контрольной точки.

Например, мультимерный полипептид по настоящему изобретению приводится в контакт с популяцией Т-клеток, включающей: i) Т-клетки-мишени, которые специфичны к эпитопу, присутствующего в мультимерном полипептиде; и ii) Т-клетки, не являющиеся мишенями, например, Т-клетки, специфичные ко второму эпитопу, который не является эпитопом, присутствующим в мультимерном полипептиде. Контакт с популяцией приводит к селективной доставке костимулирующего полипептида (например, встречающегося в природе костимулирующего полипептида (например, встречающегося в

природе IL-2) или варианта с пониженной аффинностью встречающегося в природе костимулирующего полипептида (например, варианта IL-2, раскрытого в настоящем документе)), который присутствует в мультимерном полипептиде, к клетке-мишени. Таким образом, например, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 4%, 3%, 2% или 1% Т-клеток, не являющихся мишенями, связывают мультимерный полипептид, и в результате костимулирующий полипептид (например, IL-2 или вариант IL-2), присутствующий в мультимерных полипептидах, по существу, не доставляется в Т-клетки, не являющиеся мишенями. Таким образом, совместное введение ингибитора контрольной точки с мультимерным полипептидом (вместе или в другое время до и/или после введения мультимерного полипептида) обеспечивает пациенту терапевтический эффект селективной доставки как костимулирующего полипептида, так и ингибитора контрольной точки.

В некоторых случаях популяция Т-клеток представляет собой популяцию *in vitro*. В некоторых случаях популяция Т-клеток представляет собой популяцию *in vitro*, и биологический ответ (например, активация и/или рост Т-клеток и/или фенотипическая дифференциация) популяции Т-клеток-мишеней на мультимерный полипептид по настоящему изобретению вызывается в контекст культуры *in vitro*. Например, смешанная популяция Т-клеток может быть получена от индивидуума и может контактировать с мультимерным полипептидом *in vitro*. Такое контактирование может включать однократное или многократное воздействие на популяции Т-клеток определенных доз или режимов воздействия. В некоторых случаях указанное контактирование приводит к селективному связыванию/активации и/или росту Т-клеток-мишеней в популяции Т-клеток и приводит к образованию популяции активированных и/или растущих Т-клеток-мишеней. В качестве примера, смешанная популяция Т-клеток может представлять собой моноклеарные клетки периферической крови (PBMC). Например, PBMC пациента можно получить стандартными методами взятия крови и обогащения PBMC перед воздействием 0,1–1000 нМ мультимерного полипептида по настоящему изобретению в стандартных условиях культивирования лимфоцитов. В моменты времени до, во время и после воздействия смешанной популяции Т-клеток при определенной дозе и графике, изобилие Т-клеток-мишеней в культуре *in vitro* можно отслеживать с помощью специфических мультимеров пептид-ГКГС и/или фенотипических маркеров и/или функциональной активности (например, анализа ELISpot на цитокины). В некоторых случаях, после достижения оптимального количества и/или фенотипа антигенспецифических клеток *in vitro*, вся популяция или часть популяции активированных и/или растущих Т-клеток-мишеней вводится индивидууму

(индивидууму, у которого была взята смешанная популяция Т-клетки), которому уже был введен ингибитор контрольной точки до введения Т-клеток-мишеней и/или которому будет введен ингибитор контрольной точки после введения Т-клеток-мишеней.

В некоторых случаях популяция Т-клеток представляет собой популяцию *in vitro*. Например, смешанная популяция Т-клеток получается от индивидуума и контактирует с мультимерным полипептидом по настоящему изобретению *in vitro*. Такое контактирование, которое может включать однократное или многократное воздействие Т-клеток с определенной дозой и/или схемой воздействия в контексте культуры клеток *in vitro*, может использоваться для определения того, включает ли смешанная популяция Т-клеток специфические к эпитопу, презентированному на мультимерном полипептиде Т-клетки. Презентирование специфических к эпитопу мультимерного полипептида Т-клеток можно определить путем анализа образца, содержащего смешанную популяцию Т-клеток, причем эта популяция Т-клеток содержит Т-клетки, не специфические к эпитопу (Т-клетки, не являющиеся мишенями) и могут содержать Т-клетки, специфические к эпитопу (Т-клетки-мишени). Известные анализы могут быть использованы для обнаружения активации и/или пролиферации Т-клеток-мишеней, тем самым обеспечивая анализ *ex vivo*, который может определить, обладает ли конкретный мультимерный полипептид (synTас) эпитопом, который связывается с Т-клетками, презентированными у индивидуума, и, таким образом, имеет ли мультимерный полипептид потенциальное применение в качестве терапевтической композиции для этого индивидуума. Подходящие известные анализы для выявления активации и/или пролиферации Т-клеток-мишеней включают, например, проточную цитометрическую характеристику Т-клеточного фенотипа и/или специфичности антигена и/или пролиферации. Такой анализ для обнаружения присутствия эпитоп-специфических Т-клеток, например, сопутствующая диагностика, может дополнительно включать дополнительные анализы (например, анализы ELISpot на наличие эффекторных цитокинов) и/или соответствующие контроли (например, антигенспецифические и антигенспецифические окрашивающие реагенты для мультимерного пептида-HLA) для определения того, является ли мультимерный полипептид избирательно связывающим/активирующим и/или способствующим росту Т-клеток-мишеней. Таким образом, например, настоящее раскрытие обеспечивает способ обнаружения в смешанной популяции Т-клеток, полученных от индивидуума презентации Т-клетки-мишени, которая связывает исследуемый эпитоп, причем способ включает: а) контактирование *in vitro* смешанной популяции Т-клеток с мультимерным полипептидом по настоящему изобретению, где мультимерный полипептид содержит исследуемый эпитоп; и b) обнаружение активации и/или пролиферации Т-клеток в ответ на упомянутое

контактирование, где активированные и/или пролиферирующие Т-клетки указывают на присутствие Т-клетки-мишени. Альтернативно и/или дополнительно, если активация и/или рост (пролиферация) желаемой популяции Т-клеток получена с использованием мультимерного полипептида, тогда вся или часть популяции Т-клеток, включающая активированные/растущие Т-клетки, может быть введена обратно индивидууму (которому был введен ингибитор контрольной точки до введения Т-клеток и/или будет введен ингибитор контрольной точки после введения Т-клеток) в качестве терапии.

В некоторых случаях популяция Т-клеток представляет собой популяцию *in vivo* у индивидуума. В таких случаях способ по настоящему изобретению для селективной доставки костимулирующего полипептида (например, IL-2 или IL-2 с пониженной аффинностью) в эпитоп-специфическую Т-клетку включает введение индивидууму мультимерного полипептида.

Эпитоп-специфическая Т-клетка, в которую селективно доставляется костимулирующий полипептид (например, IL-2 или IL-2 с пониженной аффинностью), также называется в настоящем документе «Т-клеткой-мишенью». В некоторых случаях Т-клетка-мишень представляет собой регуляторную Т-клетку (Treg). В некоторых случаях Treg ингибирует или подавляет активность аутореактивной Т-клетки.

В некоторых случаях Т-клетка-мишень представляет собой цитотоксическую Т-клетку. Например, Т-клетка-мишень может быть цитотоксической Т-клеткой, специфичной к раковому эпитопу (например, эпитопу, презентированному раковой клеткой).

Примеры неограничивающих аспектов изобретения

Аспекты, включая варианты реализации, предложенного предмета изобретения, описанные выше, могут обеспечивать преимущество отдельно или в комбинации с одним или более другими аспектами или вариантами реализации. Не ограничивая вышеприведенное описание, ниже представлены некоторые неограничивающие аспекты раскрытия, обозначенные как Аспекты 1–122, Аспекты A–Z, Аспекты AA–ZZ и Аспекты AAA–BBB. После прочтения данного описания специалистам в данной области техники станет понятно, что каждый из отдельно пронумерованных аспектов можно использовать или комбинировать с любым из предыдущих или следующих отдельно пронумерованных аспектов. Подразумевается, что это обеспечит основу для всех таких комбинаций аспектов и не ограничено комбинациями аспектов, явным образом приведенными ниже:

Аспект 1. Вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере на 85% указанной в SEQ ID NO: 1, где вариант полипептида IL-2 имеет

одну или несколько аминокислотных замен относительно последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1, и где вариант полипептида IL-2 проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором IL-2 (IL2R), содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на фиг. 3А–3С, по сравнению с аффинностью связывания аминокислотной последовательности IL-2, указанной в одной из SEQ ID NO: 1 для IL2R.

Аспект 2. Вариант полипептида IL2 по аспекту 1, где вариант включает замену одного или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

Аспект 3. Вариант полипептида IL2 по аспекту 1 или аспекту 2, где вариантный иммуномодулирующий полипептид проявляет от менее чем 10% до менее чем 50% аффинности связывания, проявляемой аминокислотной последовательностью IL2, представленной в SEQ ID NO: 1 для IL2R.

Аспект 4. Вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–3, где вариант включает замены F42 на Ala, Gly, Val, Ile или Leu.

Аспект 5. Вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–3, где вариант включает замены F42 и D20.

Аспект 6. Вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–3, где вариант включает замены F42 и H16.

Аспект 7. Вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–3, где вариант включает замены F42, D20 и Y45; или где вариант включает замены F42, H16 и Q126.

Аспект 8. Мультимерный полипептид, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:

i) эпитоп;

ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

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

где мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих доменов, где один или несколько иммуномодулирующих доменов расположены:

A) на С-конце первого полипептида;

B) на N-конце второго полипептида;

C) на С-конце второго полипептида; или

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

где по меньшей мере один из одного или нескольких иммуномодулирующих

доменов представляет собой вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–7, и

где мультимерный полипептид проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором IL-2 (IL2R), содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на фиг. 3А–3С, по сравнению с аффинностью связывания контрольного мультимерного полипептида, содержащего аминокислотную последовательность IL2, приведенную в SEQ ID NO: 1 для полипептида IL2R.

Аспект 9. Мультимерный полипептид по аспекту 8, где:

а) первый полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; и
- iii) вариант полипептида IL2; и

б) второй полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) второй полипептид ГКГС; и
- ii) полипептид Fc Ig.

Аспект 10. Мультимерный полипептид по аспекту 8, где:

а) первый полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) эпитоп; и
- ii) первый полипептид ГКГС; и

б) второй полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) вариант полипептида IL2;
- ii) второй полипептид ГКГС; и
- iii) полипептид Fc Ig.

Аспект 11. Мультимерный полипептид по аспекту 8, где:

а) первый полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) эпитоп; и
- ii) первый полипептид ГКГС; и

б) второй полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) второй полипептид ГКГС; и
- ii) вариант полипептида IL2.

Аспект 12. Мультимерный полипептид по аспекту 8, где:

а) первый полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- i) эпитоп; и
- ii) первый полипептид ГКГС; и

б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца:

- i) вариант полипептида IL2; а также
- ii) второй полипептид ГКГС.

Аспект 13. Мультимерный полипептид по аспекту 8, где:

а) первый полипептид содержит в порядке от N-конца до C-конца:

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; и
- iii) вариант полипептида IL2; и

б) второй полипептид содержит второй полипептид ГКГС.

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

Аспект 15. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–14, где первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и где второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

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

Аспект 17. Мультимерный полипептид по аспекту 15, где полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь HLA-A, HLA-B или HLA-C.

Аспект 18. Мультимерный полипептид по аспекту 15, где полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 5A–5C.

Аспект 19. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–14, где первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и где второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Аспект 20. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–19, где эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

Аспект 21. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–13 и 15–20, где мультимерный полипептид содержит полипептид Fc, и где полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4 полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM.

Аспект 22. Мультимерный полипептид по аспекту 21, где полипептид Fc Ig содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85%

идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 4А–4С.

Аспект 23. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–22, где первый полипептид и второй полипептид нековалентно связаны.

Аспект 24. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–22, где первый полипептид и второй полипептид ковалентно связаны друг с другом.

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

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

Аспект 27. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–26, включающий линкер, расположенный между эпитопом и первым полипептидом ГКГС.

Аспект 28. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–26, включающий линкер, расположенный между полипептидом ГКГС и иммуномодулирующим полипептидом.

Аспект 29. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–28, включающий 2 варианта полипептида IL2.

Аспект 30. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–28, включающий 3 варианта полипептида IL2.

Аспект 31. Мультимерный полипептид по аспекту 29 или аспекту 30, где 2 или 3 варианта полипептида IL2 находятся в тандеме, и где мультимерный полипептид содержит линкер между вариантами полипептида IL2.

Аспект 32. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–28, где вариант IL2 включает замену одного или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126/

Аспект 33. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–28, где вариант IL2 включает замену F42 на Ala, Gly, Val, Ile или Leu.

Аспект 34. Мультимерный полипептид по аспекту 33, где вариант IL2 содержит замены F42 и D20.

Аспект 35. Мультимерный полипептид по аспекту 33, где вариант IL2 содержит замены F42 и H16.

Аспект 36. Мультимерный полипептид по аспекту 33, где вариант IL2 включает замены F42, D20 и Y45; или где вариант IL-2 включает замены F42, H16 и Q126.

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

- i) где рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:
 - a) эпитоп;
 - b) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);
 - c) иммуномодулирующий полипептид;
 - d) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
 - e) второй полипептид ГКГС; а также
 - f) полипептид Fc иммуноглобулина (Ig);

где иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида по любому из аспектов 1–7; или же

- ii) где рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:
 - a) эпитоп;
 - b) первый полипептид ГКГС;
 - c) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;
 - d) иммуномодулирующий полипептид;
 - e) второй полипептид ГКГС; а также
 - f) полипептид Fc Ig,

где иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида по любому из аспектов 1–7.

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

Аспект 39. Нуклеиновая кислота по аспекту 38, где полипептид β 2-микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 6.

Аспект 40. Нуклеиновая кислота по аспекту 38, где полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I представляет собой тяжелую цепь HLA-A, HLA-B или HLA-C.

Аспект 41. Нуклеиновая кислота по аспекту 40, где полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 5A–5C.

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

ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Аспект 43. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–43, где эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

Аспект 44. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–43, где полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4, полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM.

Аспект 45. Нуклеиновая кислота по аспекту 44, где полипептид Fc Ig содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 4А–4С.

Аспект 46. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–45, где вариант иммуномодулирующего полипептида IL2 включает замену одного или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

Аспект 47. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–46, где мультимерный полипептид содержит второй иммуномодулирующий полипептид, выбранный из CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептора лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4 и HVEM.

Аспект 48. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–47, в которой протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

- a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:88);
- b) ENLYTQS (SEQ ID NO:90);
- c) сайт расщепления фурином;
- d) LVPR (SEQ ID NO:89);
- e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:91);
- f) GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:92);
- g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:93); и
- h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:94).

Аспект 49. Нуклеиновая кислота по аспекту 31, где рекомбинантный полипептид содержит в порядке от N-конца до С-конца:

- a) первый лидерный пептид;
- b) эпитоп;
- c) первый полипептид ГКГС;
- d) иммуномодулирующий полипептид;
- e) протеолитически расщепляемый линкер или сигнал пропуска рибосомы;

- f) второй лидерный пептид;
- g) второй полипептид ГКГС; а также
- h) полипептид Fc иммуноглобулина (Ig).

Аспект 50. Нуклеиновая кислота по аспекту 49, где первый лидерный пептид и второй лидерный пептид представляют собой лидерный пептид β 2-М.

Аспект 51. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–50, где нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции.

Аспект 52. Нуклеиновая кислота по аспекту 51, где элемент контроля транскрипции является промотром, функциональным в эукариотической клетке.

Аспект 53. Нуклеиновая кислота по любому из аспектов 37–52, где первый полипептид ГКГС или линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, а второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys, и где первый и второй остатки Cys обеспечивают дисульфидную связь между первым полипептидом ГКГС и вторым полипептидом ГКГС.

Аспект 54. Рекombинантный вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по любому из аспектов 37–52.

Аспект 55. Рекombинантный вектор экспрессии по аспекту 54, где вектор представляет собой вирусный вектор или невирусный вектор.

Аспект 56. Клетка-хозяин, генетически модифицированная рекombинантным вектором экспрессии по аспекту 48–55.

Аспект 57. Клетка-хозяин по аспекту 56, где клетка-хозяин находится *in vitro*.

Аспект 58. Клетка-хозяин по аспекту 57, где клетка-хозяин генетически модифицирована таким образом, что клетка не продуцирует эндогенный полипептид β 2-микроглобулина ГКГС.

Аспект 59. Композиция, содержащая:

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

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; и
- iii) иммуномодулирующий домен,

где иммуномодулирующий домен представляет собой вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–7; а также

б) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, включающий, в порядке от N-конца до С-конца:

i) второй полипептид ГКГС; и

ii) полипептид Fc Ig.

Аспект 60. Композиция, содержащая:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

б) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, включающий, в порядке от N-конца до С-конца:

i) иммуномодулирующий домен, где иммуномодулирующий домен представляет собой вариант полипептида IL2 по любому из аспектов 1–7;

ii) второй полипептид ГКГС; а также

iii) полипептид Fc Ig.

Аспект 61. Композиция по аспекту 59 или аспекту 60, где первая и/или вторая нуклеиновая кислота присутствует в рекомбинантном векторе экспрессии.

Аспект 62. Клетка-хозяин, генетически модифицированная композицией по любому из аспектов 59–61.

Аспект 63. Способ получения мультимерного полипептида по любому из аспектов 8–36, способ включает:

а) культивирование клетки-хозяина по любому из аспектов 56–58 и 62 *in vitro* в культуральной среде в условиях, при которых клетка-хозяин синтезирует мультимерный полипептид; а также

б) выделение мультимерного полипептида из клетки-хозяина и/или из культуральной среды.

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

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

Аспект 66. Способ селективной активации эпитоп-специфической Т-клетки, включающий контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом по любому из аспектов 8–36, где указанное контактирование избирательно активирует эпитоп-специфическую Т-клетку.

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

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

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

Аспект 70. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества:

- а) мультимерного полипептида по любому из аспектов 8–36; или же
- б) одного или нескольких рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–36; или же
- с) одной или нескольких мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие мультимерный полипептид по любому из аспектов 8–36,

где эпитоп представляет собой эпитоп, ассоциированный с раком, и где указанное введение эффективно для селективной активации специфической к эпитопу раковой Т-клетки у индивидуума.

Аспект 71. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение осуществляется подкожно.

Аспект 72. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение осуществляется внутривенно.

Аспект 73. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение осуществляется внутриопухолево.

Аспект 74. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение осуществляется системно.

Аспект 75. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение осуществляется дистально относительно места лечения.

Аспект 76. Способ по аспекту 70, в котором указанное введение осуществляется местно.

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

Аспект 78. Композиция, содержащая:

- а) мультимерного полипептида по любому из аспектов 8–36; а также
- б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

Аспект 79. Композиция, содержащая:

а) нуклеиновую кислоту по любому из аспектов 37–53 или рекомбинантный вектор экспрессии по аспекту 54 или 55; а также

б) фармацевтически приемлемый наполнитель.

Аспект 80. Мультимерный полипептид, содержащий:

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

i) эпитоп;

ii) полипептид $\beta 2$ микроглобулина ($\beta 2M$), содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34А; а также

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

i) вариант полипептида IL-2 по любому из аспектов 1–7;

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

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

Аспект 81. Мультимерный полипептид по аспекту 80, где полипептид Fc IgG1 содержит замену N297A (N77A на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 82. Мультимерный полипептид по аспекту 80, где полипептид Fc IgG1 содержит замену L234A и замену L235A (L14A и L15A на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 83. Мультимерный полипептид по аспекту 80, где полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F и замену L235E (L14F и L15E на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 84. Мультимерный полипептид по аспекту 80, где полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и P331S (замены L14F, L15E и P111S на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 85. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 80–84, где второй полипептид содержит две копии варианта полипептида IL-2.

Аспект 86. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 80–85, где первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и $\beta 2M$ полипептидом.

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

а) первой копии варианта полипептида IL-2 и второй копии варианта полипептида IL-2;

б) вариантом полипептида IL-2 и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

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

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

Аспект 89. Мультимерный полипептид, содержащий:

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

i) эпитоп;

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

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

i) вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34В;

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

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

Аспект 90. Мультимерный полипептид по аспекту 89, где полипептид Fc IgG1 содержит замену N297A (N77A на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 91. Мультимерный полипептид по аспекту 89, где полипептид Fc IgG1 содержит замену L234A и замену L235A (L14A и L15A на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 92. Мультимерный полипептид по аспекту 89, где полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F и замену L235E (L14F и L15E на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 93. Мультимерный полипептид по аспекту 89, где полипептид Fc IgG1 содержит замену L234F, замену L235E и замену P331S (L14F, L15E и P111S на основании нумерации аминокислот, приведенной на фиг. 33А).

Аспект 94. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 89-93, где второй полипептид содержит две копии варианта полипептида IL-2.

Аспект 95. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 89-94, где первый

полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и β 2М полипептидом.

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

a) первой копии варианта полипептида IL-2 и второй копии варианта полипептида IL-2;

b) вариантом полипептида IL-2 и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

c) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и полипептидом Fc IgG1.

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

Аспект 98. Мультимерный полипептид, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:

i) эпитоп, содержащий аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 77);

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

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

i) вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34В;

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

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

Аспект 99. Мультимерный полипептид по аспекту 98, где полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33В.

Аспект 100. Мультимерный полипептид по аспекту 98, где полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33С.

Аспект 101. Мультимерный полипептид по аспекту 98, где полипептид Fc IgG1 содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 33D.

Аспект 102. Мультимерный полипептид по любому из аспектов 98-101, где второй полипептид содержит две копии варианта полипептида IL-2.

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

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

a) первой копии варианта полипептида IL-2 и второй копии варианта полипептида

IL-2;

b) вариантом полипептида IL-2 и полипептидом тяжелой цепи ГКГС; а также

c) между полипептидом тяжелой цепи ГКГС и полипептидом Fc IgG1.

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

Аспект 106. Мультимерный полипептид, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 31;

b) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 22.

Аспект 107. Мультимерный полипептид, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 31;

b) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 25.

Аспект 108. Мультимерный полипептид, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 31;

b) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 28.

Аспект 109. Фармацевтическая композиция, содержащая:

a) мультимерный полипептид в соответствии с любым из аспектов 80–108; а также

b) фармацевтически приемлемый наполнитель.

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

Аспект 111. Одна или несколько нуклеиновых кислот по аспекту 110, где нуклеиновые кислоты присутствуют в рекомбинантных векторах экспрессии.

Аспект 112. Способ селективной активации эпитоп-специфической Т-клетки, включающий контакт Т-клетки с мультимерным полипептидом по любому из аспектов 80–108, где указанное контактирование избирательно активирует эпитоп-специфическую Т-клетку.

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

Аспект 114. Способ по аспекту 112, в котором указанное контактирование

происходит *in vivo*.

Аспект 115. Способ, включающий введение индивидууму эффективного количества:

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

Аспект 116. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется подкожно.

Аспект 117. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется внутривенно.

Аспект 118. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется системно.

Аспект 119. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется внутримышечно.

Аспект 120. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется дистально относительно места лечения.

Аспект 121. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется местно.

Аспект 122. Способ по аспекту 115, в котором указанное введение осуществляется в месте лечения или около места лечения.

Аспект А. Способ модулирования иммунного ответа у индивидуума, нуждающегося в этом, способ включает введение индивидууму мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки,

где мультимерный полипептид содержит:

- а) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и
- б) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) второй полипептид ГКГС; и
 - ii) необязательно полипептид Fc иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

где мультимерный полипептид содержит один или несколько

иммуномодулирующих полипептидов, где один или несколько иммуномодулирующих полипептидов расположены:

- A) на С-конце первого полипептида;
 - B) на N-конце второго полипептида;
 - C) на С-конце второго полипептида; или
 - D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида; и
- где указанное введение модулирует иммунный ответ у индивидуума.

Аспект В. Способ лечения, включающий введение индивидууму мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки,

где мультимерный полипептид содержит:

- a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и
- b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) второй полипептид ГКГС; и
 - ii) необязательно полипептид Fc иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

где мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих полипептидов, где один или несколько иммуномодулирующих полипептидов расположены:

- A) на С-конце первого полипептида;
 - B) на N-конце второго полипептида;
 - C) на С-конце второго полипептида; или
 - D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида; и
- где указанное введение лечит индивидуума.

Аспект С. Способ лечения рака у индивидуума, включающий введение индивидууму мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки,

где мультимерный полипептид содержит:

- a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и
- b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) второй полипептид ГКГС; и
 - ii) необязательно полипептид Fc иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

где мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих полипептидов, где один или несколько иммуномодулирующих

полипептидов расположены:

- A) на С-конце первого полипептида;
- B) на N-конце второго полипептида;
- C) на С-конце второго полипептида; или
- D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида; и где указанное введение лечит рак у индивидуума.

Аспект D. Способ лечения, включающий введение индивидууму мультимерного полипептида, где индивидуум подвергается лечению ингибитором иммунной контрольной точки,

где мультимерный полипептид содержит:

- a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и
- b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) второй полипептид ГКГС; и
 - ii) необязательно полипептид Fc иммуноглобулина (Ig) или не-Ig каркас,

где мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих полипептидов, где один или несколько иммуномодулирующих полипептидов расположены:

- A) на С-конце первого полипептида;
- B) на N-конце второго полипептида;
- C) на С-конце второго полипептида; или
- D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида; и где указанное введение лечит индивидуума.

Аспект E. Способ по любому из Аспектов A–D, где мультимерный полипептид содержит:

- a) первый полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) иммуномодулирующий домен; и
- b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до С-конца:
 - i) второй полипептид ГКГС; и
 - ii) полипептид Fc Ig.

Аспект F. Способ по любому из Аспектов A–D, где мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) иммуномодулирующий домен;

iii) второй полипептид ГКГС; и

ii) полипептид Fc иммуноглобулина (Ig).

Аспект G. Способ по любому из Аспектов A–D, где мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

ii) полипептид Fc Ig; и

iii) иммуномодулирующий домен.

Аспект H. Способ по любому из Аспектов A–D, где мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

ii) иммуномодулирующий домен.

Аспект I. Способ по любому из Аспектов A–D, где мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) иммуномодулирующий домен; и

ii) второй полипептид ГКГС.

Аспект J. Способ по любому из Аспектов A–D, где мультимерный полипептид содержит:

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

- i) эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; и
- iii) иммуномодулирующий домен; и
- b) второй полипептид, содержащий в порядке от N-конца до C-конца:
 - i) второй полипептид ГКГС.

Аспект К. Способ по любому из аспектов A–D, где не-Ig-каркас мультимерного полипептида представляет собой полипептид XTEN, полипептид трансферрина, полипептид рецептора Fc, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид или шелкоподобный эластиноподобный полипептид.

Аспект L. Способ по любому одному из аспектов A–K, где первый полипептид ГКГС мультимерного полипептида представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и где второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

Аспект M. Способ по аспекту L, где полипептид β 2-микроглобулина мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 6.

Аспект N. Способ по аспекту L, где полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида представляет собой тяжелую цепь HLA-A, HLA-B или HLA-C.

Аспект O. Способ по аспекту 11, где полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 5A–5C.

Аспект P. Способ по любому одному из аспектов A–K, где первый полипептид ГКГС мультимерного полипептида представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и где второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

Аспект Q. Способ по любому одному из аспектов A–P, где эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

Аспект R. Способ по любому одному из аспектов A–J, где мультимерный полипептид мультимерного полипептида содержит полипептид Fc, и где полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4 полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM.

Аспект S. Способ по аспекту R, где полипептид Fc Ig содержит аминокислотную

последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 4А–4С.

Аспект Т. Способ по любому одному из аспектов А–S, где первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида нековалентно связаны.

Аспект U. Способ по любому одному из аспектов А–S, где первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида ковалентно связаны.

Аспект V. Способ по аспекту U, где ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь.

Аспект W. Способ по аспекту V, где первый полипептид ГКГС или линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС мультимерного полипептида содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys и второй полипептид ГКГС мультимерного полипептида содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys и где дисульфидная связь находится между первым и вторым остатками Cys.

Аспект X. Способ по любому одному из аспектов А–K, где мультимерный полипептид содержит линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС, между иммуномодулирующим полипептидом и полипептидом ГКГС или между полипептидом ГКГС и Fc Ig.

Аспект Y. Способ по любому одному из аспектов А–K, где иммуномодулирующий полипептид мультимерного полипептида выбран из полипептида 4-1BBL, полипептида B7-1; полипептида B7-2, полипептида ICOS-L, полипептида OX-40L, полипептида CD80, полипептида CD86, полипептида PD-L1, полипептида FasL и полипептида PD-L2.

Аспект Z. Способ по любому из аспектов А–Y, где мультимерный полипептид содержит 2 или более иммуномодулирующих полипептида.

Аспект AA. Способ по аспекту Z, где 2 или более иммуномодулирующих полипептида находятся в тандеме.

Аспект BB. Способ по любому из аспектов А–Z и AA, где иммуномодулирующий полипептид выбран из полипептида 4-1BBL, полипептида CD80, полипептида CD86, полипептида IL-2, полипептида B7-1; полипептида B7-2, полипептида ICOS-L, полипептида OX-40L, полипептида CD86, полипептида PD-L1, полипептида FasL и полипептида PD-L2.

Аспект CC. Способ по любому из аспектов А–Z и AA–BB, где иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, имеющий одну или несколько аминокислотных замен относительно природной формы иммуномодулирующего полипептида, и где вариант

иммуномодулирующего полипептида проявляет пониженную аффинность связывания с комодулирующим полипептидом, с которым связывается природная форма иммуномодулирующего полипептида.

Аспект DD. Способ по любому из аспектов A–Z и AA–BB, где иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере на 85% указанной в SEQ ID NO: 1, где вариант полипептида IL-2 имеет одну или несколько аминокислотных замен относительно последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1, и где вариант полипептида IL-2 проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором IL-2 (IL2R), содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на фиг. 3A–3C, по сравнению с аффинностью связывания аминокислотной последовательности IL-2, указанной в одной из SEQ ID NO: 1 для IL2R.

Аспект EE. Способ по аспекту DD, где вариант полипептида IL-2 включает замену одного или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

Аспект FF. Способ по аспекту EE, где вариант полипептида IL-2 включает:

- a) замены F42 и D20;
- b) замены F42 и H16;
- c) замены F42, D20 и Y45; или
- d) замены F42, H16 и Q126.

Аспект GG. Способ по любому одному из аспектов A–Z и AA–FF, где мультимерный полипептид содержит полипептид Fc Ig, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S.

Аспект HH. Способ по аспекту GG, где полипептид Fc Ig содержит:

- a) замену N297A;
- b) замену L234A и замену L235A;
- c) замену L234F и замену L235E; или
- d) замену L234F, замену L235E и замену P331S.

Аспект II. Способ по любому одному из аспектов A–Z и AA–HH, где эпитоп мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 77).

Аспект JJ. Способ по любому одному из аспектов A–Z и AA–HH, где полипептид β 2-микроглобулина мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34A.

Аспект КК. Способ по любому одному из аспектов А–Z и АА–JJ, где полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) мультимерного полипептида включает аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34С.

Аспект LL. Способ по любому из аспектов А–Z и АА–KK, где ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к ингибитору иммунной контрольной точки.

Аспект MM. Способ по аспекту LL, где антитело представляет собой моноклональное антитело.

Аспект NN. Способ по аспекту КК или аспекту LL, где антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область гуманизированной легкой цепи и/или тяжелой цепи.

Аспект ОО. Способ по аспекту LL, где антитело содержит полипептид Fc, и где полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4 полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM.

Аспект PP. Способ по аспекту LL, где антитело представляет собой Fv-фрагмент, нанотело или Fab-фрагмент.

Аспект QQ. Способ по любому одному из аспектов LL–PP, где ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к ингибитору иммунной контрольной точки, выбранному из CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K дельта, PI3K гамма, TAM, аргиназы, CD137 (также известного как 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, CD96, TIGIT, CD122, PD-1, PD-L1 и PD-L2.

Аспект RR. Способ по любому одному из аспектов LL–PP, где ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к PD1.

Аспект SS. Способ по аспекту RR, где антитело представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, пидилизумаб или BMS-39886.

Аспект TT. Способ по любому одному из аспектов LL–PP, где ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к PD-L1.

Аспект UU. Способ по аспекту TT, где антитело представляет собой дурвалумаб, атезолизумаб, KN035 или авелумаб.

Аспект VV. Способ по любому одному из аспектов LL–PP, где ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к CTLA4.

Аспект WW. Способ по аспекту VV, где антитело представляет собой ипилимумаб или тремелимумаб.

Аспект XX. Способ по любому из аспектов А–Z и АА–WW, где мультимерный

полипептид и ингибитор иммунной контрольной точки вводят одним и тем же путем введения.

Аспект YY. Способ по любому одному из аспектов A–Z и AA–WW, где мультимерный полипептид и ингибитор иммунной контрольной точки вводят различными путями введения.

Аспект ZZ. Способ по любому из аспектов A–Z и AA–YY, где мультимерный полипептид вводят путем введения, выбранным из подкожного, внутривенного, перитуморального и внутримышечного.

Аспект AAA. Способ по любому из аспектов A–Z и AA–YY, где ингибитор иммунной контрольной точки вводят путем введения, выбранным из подкожного, внутривенного, перитуморального и внутримышечного.

Аспект BBB. Способ по любому из аспектов A–Z, AA–ZZ и AAA, где индивидуум представляет собой человека.

Примеры

Следующие примеры приводятся с тем, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как осуществлять и применять настоящее изобретение, однако они не претендуют ни на ограничение объема того, что авторы рассматривают как свое изобретение, ни на то, что нижеприведенные эксперименты представляют собой все или единственные проведенные эксперименты. Были приняты меры для того, чтобы сохранить точность в отношении используемых чисел (например, количеств, значений температуры и т.д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части означают массовые части, молекулярная масса означает среднюю молекулярную массу, температура выражена в градусах Цельсия, а давление представляет атмосферное давление или давление, близкое к атмосферному. Могут употребляться стандартные сокращения, например, п. о., пара(-ы) оснований; т.п. н., тысяча(-и) пар нуклеотидов; пл, пиколитр(-ы); с или сек, секунда(-ы); мин, минута(-ы); ч или час, час(-ы); ак, аминокислота(-ы); тысяча(-и) пар нуклеотидов; п. о., пара(-ы) оснований; нт, нуклеотид(-ы); килоДальтон(-ы), кДа; в/м, внутримышечный(-о); в/б, внутрибрюшинный(-о); п/к, подкожный(-о) и т.п.

Пример 1. Выработка IL-2/synTac

Была проанализирована выработка IL-2/synTac временно трансфицированными клетками млекопитающих. Как показано на фиг. 7А, уровни выработки (в мг/л культуральной среды) двух разных IL-2/synTac через 6–7 дней после временной трансфекции клеток составляли более 90 мг/л.

IL-2/synTас, вырабатываемые клетками млекопитающих, очищали и подвергали электрофорезу в полиакриламидном геле при восстанавливающих и невосстанавливающих условиях. Результаты изображены на фиг. 7В. Размеры указаны в кДа.

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

synTас вырабатывался в клетках млекопитающих. Как показано на фиг. 8А, уровень выработки IL-2/synTас, содержащего IL-2 в тяжелой цепи, примерно в 25 раз превышал такой уровень IL-2/synTас, содержащий IL-2 в легкой цепи.

IL-2/synTас, вырабатываемые клетками млекопитающих, подвергали электрофорезу в полиакриламидном геле при восстанавливающих и невосстанавливающих условиях; и гели окрашивали кумасси синим. Как показано на фиг. 8В, IL-2/synTас, содержащий IL-2 в тяжелой цепи, был стабильнее IL-2/synTас, содержащий IL-2 в легкой цепи. Размеры указаны в кДа.

Были оценены уровни экспрессии IL-2/synTас, содержащих вариант IL-2. На фиг. 9 показан уровень экспрессии IL-2/synTас, в которых IL-2 относится к дикому типу (дт) или содержит различные комбинации F42A, D20K, Q126A, E15A, Y45A и H16A. Уровни экспрессии выражены как процентное изменение относительно уровней экспрессии synTас с IL-2 дикого типа.

Было оценено влияние количества копий IL-2 в IL-2/synTас на уровни экспрессии. IL-2/synTас содержали одну копию (1X), две копии (2X) или три копии (3X) в synTас. Различные IL-2/synTас вырабатывались в клетках млекопитающих и анализировались уровни экспрессии. Данные изображены на фиг. 10. IL-2/synTас с одной или двумя копиями IL-2 демонстрировали сходные уровни экспрессии, тогда как IL-2/synTас с тремя копиями IL-2 демонстрировали более низкие уровни экспрессии. Уровни экспрессии выражены как кратное изменение относительно уровня экспрессии IL-2/synTас с одной копией IL-2.

Пример 2. Активность IL-2/synTас *in vitro*

Для достижения максимальной специфичности нацеливания через рецептор Т-клеток, аффинность костимулирующего полипептида к его лиганду должна быть ниже аффинности ГКГС к TCR. Аффинность пептида/ГКГС к TCR может составлять примерно 10 мкМ.

Был создан IL-2/synTас, содержащий две копии варианта IL-2, содержащего

замены F42A и H16A. Костимуляторная передача сигналов, индуцированная IL-2/synTас, была протестирована на антигенспецифических CD8⁺ Т-клетках и неспецифических CD8⁺ Т-клетках. Антигенспецифические CD8⁺ Т-клетки и неспецифические CD8⁺ Т-клетки связывались с различными концентрациями IL-2/synTас.

Как показано на фиг. 11, IL-2/synTас индуцировал костимуляторную передачу сигналов в антигенспецифических CD8⁺ Т-клетках в значительно более низкой концентрации, чем в неспецифических CD8⁺ Т-клетках.

Была протестирована селективность связывания IL-2/synTас. CD8⁺ Т-клетки выделяли из селезенки мышей LCMV или OT1. CD8⁺ Т-клетки инкубировали с несколькими IL-2/synTас в различных концентрациях и оставляли связываться в течение 20 минут. Несколько IL-2/synTас содержали Fc IgG2a. Связывание IL-2/synTас с CD8⁺ Т-клетками детектировали с использованием меченного фикоэритрином (ФЭ) антитела к IgG2a. Флуоресценцию ФЭ определяли с использованием проточной цитометрии для определения процента клеток, связанных с IL-2/synTас.

Как показано на фиг. 12, IL-2/synTас связывается антигенспецифическим образом с CD8⁺ Т-клетками LCMV, но не проявляет значимого связывания с OT1 CD8⁺ Т-клетками. Таким образом, IL-2/synTас селективно связывается с CD8⁺ Т-клетками, специфическими к эпитопу, присутствующему в IL-2/synTас.

Было определено, способен ли IL-2/synTас селективно активировать Т-клетки-мишени. CD8⁺ Т-клетки выделяли из селезенки мышей LCMV или OT1. Используемые IL-2/synTас включали либо замену одной аминокислоты F42A, либо замены F42A и H16A. CD8⁺ Т-клетки стимулировали IL-2/synTас в различных концентрациях в течение 20 минут. Затем клетки окрашивали меченным ФЭ антителом к фосфо-STAT5. Флуоресценцию ФЭ определяли с помощью проточной цитометрии для определения процента клеток, которые являются фосфо-STAT5-позитивными, где фосфо-STAT5 является маркером активации.

Как показано на фиг. 13, IL-2/synTас индуцировал стимуляцию CD8⁺ (на что указывает % фосфо-STAT5-позитивных клеток) в антигенспецифических (LCMV) CD8⁺ Т-клетках при значительно более низких концентрациях, чем в неспецифических (BL6) CD8⁺ Т-клетках.

Была проанализирована специфическая активность различных IL-2/synTас. IL-2/synTас, содержащие одну копию IL-2, две копии IL-2 или три копии IL-2, где IL-2 содержал различные комбинации замен F42A, D20K, Q126A, E15A, H16A и Y45A, были протестированы в различных концентрациях для оценки стимуляции антигенспецифических (LCMV) или неспецифических (BL6) CD8⁺ клеток. Был определен

процент 5 (pSTAT5)-положительного фосфосигнального преобразователя и активатора транскрипции. Данные изображены на фиг. 14А-14F.

Пример 3. Активность IL-2/synTас *in vivo*

Была протестирована активность IL-2/synTас *in vivo*. Было протестировано кратное изменение *in vivo* в антигенспецифических CD8⁺ Т-клетках после введения фосфатно-солевого буфера (ФСБ), рекомбинантного IL-2 (rIL-2) или IL-2/synTас по настоящему изобретению. Данные показаны на фиг. 15, левая панель. Данные показывают, что IL-2/synTас в 10 раз более эффективен, чем rIL-2.

Была протестирована специфичность IL-2/synTас *in vivo*. Были оценены антигенспецифические и неантигенспецифические ответы после введения ФСБ, rIL-2 или IL-2/synTас. Данные выражены в процентах клеток лимфатических узлов, которые были антиген-специфическими или антиген-неспецифическими после введения ФСБ, rIL-2 или IL-2/synTас. Как изображено на фиг. 15, правая панель, IL-2/synTас индуцировал антигенспецифический ответ (выраженный в % максимального разведения сукцинимиდიлового сложного эфира карбоксифлуоресцеина (CFSE) в качестве индекса пролиферации Т-клеток). Напротив, ответ, индуцированный rIL-2, не был антигенспецифическим.

Был проведен анализ доза-ответ. IL-2/synTас (F42A, H16A) вводили внутрибрюшинно в концентрациях 4 мг/кг, 8 мг/кг и 16 мг/кг. Результаты приведены на фиг. 16А. Как показано на фиг. 16А, IL-2/synTас, введенный в дозе 4 мг/кг или 8 мг/кг, дал аналогичные результаты; IL-2/synTас, введенный в дозе 16 мг/кг, вызывал наиболее сильную иммуностимулирующую активность.

Было протестировано влияние пути введения IL-2/synTас. IL-2/synTас (F42A, H16A) вводили в дозе 4 мг/кг либо подкожно (SubQ), либо внутрибрюшинно (IP). Как показано на фиг. 16В, подкожное введение приводило к более сильной иммуностимулирующей активности, чем введение внутрибрюшинно.

Было установлено влияние количества копий IL-2 на эффективность. IL-2/synTас, содержащие одну копию IL-2 (F42A, H16A) или две копии IL-2 (F42A, H16A), вводили мышам с опухолями, несущими эпитоп Е7 ВПЧ. Эпитопом, включенным в эти IL-2/synTас, был эпитоп Е7 ВПЧ. Как показано на фиг. 17А и 17В, IL-2/synTас, содержащий две копии IL-2 (F42A, H16A), был более эффективным в отношении уменьшения размера опухоли, чем IL-2/synTас, содержащий только одну копию IL-2 (F42A, H16A).

Пример 4. ФК/ФД и исследования стабильности IL-2/synTас

Был проведен фармакокинетический (ФК) анализ IL-2/synTас. IL-2/synTас (F42A, D20K, H16A) вводили внутрибрюшинно (IP) в дозе 10 мг/кг. В различные моменты

времени после введения были получены образцы сыворотки и этих в образцах сыворотки был измерен уровень IL-2/synTас. Как показано на фиг. 18, период полувыведения IL-2/synTас из сыворотки составлял примерно 4 часов.

IL-2/synTас вводили IP мышам C57BL/6 в дозе 10 мг/кг и через два часа после инъекций собирали сыворотку. IL-2/synTас включал в себя метку His₆. Подвергали 100 нг введенного белка или эквивалент 40 мкл сыворотки электрофорезу в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-PAGE) и исследовали с помощью антитела к (His)₆ или антитела к β-2М. Результаты, приведенные на фиг. 19, показывают, что IL-2/synTас остается стабильным и интактным в течение по меньшей мере 2 часов *in vivo*.

IL-2/synTас хранили при 4°C или 37°C в течение 5 дней. Анализировали 0,5 мг каждого образца (при 10 мг/мл) методом эксклюзионной хроматографии. Как показано на фиг. 20, IL-2/synTас является стабильным и интактным в течение по меньшей мере 5 дней при 4°C или 37°C.

Пример 5. Влияние IL-2/synTас и антитела к PD1 на объем опухоли

Как показано на фиг. 35, введение IL-2/synTас и антитела к PD1 мыши с опухолью уменьшало объем опухоли.

Пример 6. Получение и характеристика полипептидов synTас с вариантом 4-1BBL

Были синтезированы и охарактеризованы полипептиды synTас. Следующие полипептиды synTас были протестированы на активность в отношении специфических к овальбумину (OVA) Т-клеток:

1) Syn83/51. Легкая цепь Syn83/51 содержит: а) эпитоп Т-клетки OVA; b) аминокислоты 50–254 полипептида 4-1BBL дикого типа; и с) β2М; и тяжелая цепь Syn83/51 содержит: а) тяжелую цепь ГКГС; и b) Fc Ig.

2) Syn239/345. Легкая цепь Syn239/345 содержит: а) эпитоп Т-клеток OVA; b) тример из аминокислот 80–254 4-1BBL дикого типа; и с) β2М; и тяжелая цепь Syn239/345 содержит: а) тяжелую цепь ГКГС; и b) FcIgG2a.

3) Syn341/348. Легкая цепь Syn341/348 содержит: а) эпитоп Т-клетки OVA; b) тример 4-1BBL дикого типа; и с) β2М; и тяжелая цепь Syn239/345 содержит: а) тяжелую цепь ГКГС; и b) Fc IgG2a. В Syn341/348 первая единица тримера 4-1BBL содержит аминокислоты 50–254 4-1BBL дикого типа; вторая и третья единицы тримера 4-1BBL содержат аминокислоты от 80 до 254 4-1BBL дикого типа.

4) Syn341/349. Легкая цепь Syn341/349 содержит: эпитоп Т-клеток OVA; b) тример из аминокислот 80–254 4-1BBL, содержащий замену K127A в каждой единице тримера, с линкером GlySerSerSerSer между первым и вторым звеньями и между вторым и третьим

звеньями тримера; и с) $\beta 2M$; и тяжелая цепь Syn239/345 содержит: а) тяжелую цепь ГКГС; и б) Fc IgG2a.

Полученные в результате гетеродимеры synTас культивировали *in vitro* со специфическими к овалбумину Т-клетками в течение 3 дней или 5 дней в концентрациях 0; 1; 3,17; 10,01; 31,65 и 100 нМ synTас. Контроль включал: а) только среду; б) форбол-12-миристат-13-ацетат (РМА) и ионофор A23187; и с) антитело к CD3 и антитело к CD28.

Через 3 дня и через 5 дней в культуральной среде определяли концентрацию IFN- γ , IL-2, IL-6, TNF, IL-10, IL-17A и IL-4. Кроме того, была определена жизнеспособность специфических к OVA Т-клеток и пролиферация специфических к OVA Т-клеток.

Данные представлены на фиг. 38-46.

Как показано на фиг. с 38 по 46, Syn 341/349 индуцирует выработку IL-2 (клеточный фитнес-цитокин); индуцирует выработку цитотоксических цитокинов TNF α и IFN- γ ; а также индуцирует пролиферацию и повышает жизнеспособность эпитоп-специфических Т-клеток.

Пример 7. Выработка synTас в клетках CHO

SynTас, содержащие 4-1BBL дикого типа (дт) или содержащие 4-1BBL с аминокислотными заменами, как показано на фиг. 47, временно экспрессировали в клетках CHO. Было определено количество выработанного synTас. Полученные количества представлены на фиг. 47.

Пример 8. Эффект synTас 4-1BBL *in vivo*

Вводили synTас, содержащий антигенный пептид E7 вируса папилломы человека (ВПЧ) и вариант K127A 4-1BBL по настоящему изобретению (обозначаемый как CUE:4-1BBL (K127A) на фиг. 48), в дозе 5 мг/кг путем внутрибрюшинной (IP) инъекции мышам с приживленной на боку ВПЧ⁺ TC-1 легочной карциномой. В качестве контроля мышам с такой же опухолью вводили фосфатно-солевой буфер (ФСБ). Как показано на фиг. 48, объем опухоли у мышей, получавших CUE:4-1BBL (K127A), уменьшался по сравнению с мышами, получавшими ФСБ.

Пример 9. Эффекты *in vivo* совместного введения synTас 4-1BBL и ингибитора иммунной контрольной точки

Как изображено на фиг. 49, совместное введение synTас 4-1BBL по настоящему изобретению и антитела к PD1 уменьшало объем опухоли на мышинной модели опухоли и увеличивало процент инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), которые представляли собой гранзим В⁺.

Хотя настоящее изобретение было описано с отсылкой на конкретные варианты его реализации, однако специалистам в данной области техники следует понимать, что могут

быть осуществлены различные изменения и выполнена замена эквивалентов без отступления от сути и объема этого изобретения. Кроме того, могут быть осуществлены многочисленные модификации с целью адаптации конкретной ситуации, материала, химической композиции, процесса, этапа или этапов процесса к цели, сути и объему настоящего изобретения. Предполагается, что все такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ модулирования иммунного ответа у индивидуума, нуждающегося в этом, включающий введение индивидууму мультимерного полипептида и ингибитора иммунной контрольной точки,

причем мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп;

ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

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

при этом мультимерный полипептид содержит один или несколько иммуномодулирующих полипептидов, причем один или несколько иммуномодулирующих полипептидов расположены:

A) на С-конце первого полипептида;

B) на N-конце второго полипептида;

C) на С-конце второго полипептида; или

D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида; и
при этом указанное введение модулирует иммунный ответ у индивидуума.

2. Способ по п. 1, в котором мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп;

ii) первый полипептид ГКГС; и

iii) иммуномодулирующий домен; и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

ii) полипептид Fc Ig.

3. Способ по п. 1, в котором мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) иммуномодулирующий домен;

iii) второй полипептид ГКГС; и

ii) полипептид Fc иммуноглобулина (Ig).

4. Способ по п. 1, в котором мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

ii) полипептид Fc Ig; и

iii) иммуномодулирующий домен.

5. Способ по п. 1, в котором мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) второй полипептид ГКГС; и

ii) иммуномодулирующий домен.

6. Способ по п. 1, в котором мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп; и

ii) первый полипептид ГКГС; и

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

i) иммуномодулирующий домен; и

ii) второй полипептид ГКГС.

7. Способ по п. 1, в котором мультимерный полипептид содержит:

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

i) эпитоп;

ii) первый полипептид ГКГС; и

iii) иммуномодулирующий домен; и

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

i) второй полипептид ГКГС.

8. Способ по п. 1, в котором не-Ig-каркас мультимерного полипептида представляет собой полипептид ХТЕН, полипептид трансферрина, полипептид рецептора Fc, эластиноподобный полипептид, шелкоподобный полипептид или шелкоподобный эластиноподобный полипептид.

9. Способ по любому из пп. 1–8, в котором первый полипептид ГКГС мультимерного полипептида представляет собой полипептид β 2-микроглобулина; и в

котором второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I.

10. Способ по п. 9, в котором полипептид β 2-микроглобулина мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с одной из набора аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 6.

11. Способ по п. 9, в котором полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I мультимерного полипептида представляет собой тяжелую цепь HLA-A, HLA-B или HLA-C.

12. Способ по п. 11, в котором полипептид тяжелой цепи ГКГС класса I содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с набором аминокислотных последовательностей, представленных на одной из фиг. 5A–5C.

13. Способ по любому из пп. 1–8, в котором первый полипептид ГКГС мультимерного полипептида представляет собой полипептид альфа-цепи ГКГС класса II; и в котором второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид бета-цепи ГКГС класса II.

14. Способ по любому из пп. 1–13, в котором эпитоп представляет собой Т-клеточный эпитоп.

15. Способ по любому из пп. 1–7, в котором мультимерный полипептид мультимерного полипептида содержит полипептид Fc, и причем полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4, полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM.

16. Способ по п. 15, в котором полипептид Fc Ig содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 85% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, изображенной на фиг. 4A–4C.

17. Способ по любому из пп. 1–16, в котором первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида нековалентно связаны.

18. Способ по любому из пп. 1–16, в котором первый полипептид и второй полипептид мультимерного полипептида ковалентно связаны.

19. Способ по п. 13, в котором ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь.

20. Способ по п. 19, в котором первый полипептид ГКГС или линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС мультимерного полипептида содержит

аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, и второй полипептид ГКГС мультимерного полипептида содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys, и причем дисульфидная связь находится между первым и вторым остатками Cys.

21. Способ по любому из пп. 1–8, в котором мультимерный полипептид содержит линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС, между иммуномодулирующим полипептидом и полипептидом ГКГС или между полипептидом ГКГС и Fc Ig.

22. Способ по любому из пп. 1–8, в котором иммуномодулирующий полипептид мультимерного полипептида выбран из полипептида 4-1BBL, полипептида B7-1; полипептида B7-2, полипептида ICOS-L, полипептида OX-40L, полипептида CD80, полипептида CD86, полипептида PD-L1, полипептида FasL и полипептида PD-L2.

23. Способ по любому из пп. 1–22, в котором мультимерный полипептид содержит 2 или более иммуномодулирующих полипептида.

24. Способ по п. 23, в котором 2 или более иммуномодулирующих полипептида находятся в тандеме.

25. Способ по любому из пп. 1–24, в котором иммуномодулирующий полипептид выбран из полипептида 4-1BBL, полипептида CD80, полипептида CD86, полипептида IL-2, полипептида B7-1; полипептида B7-2, полипептида ICOS-L, полипептида OX-40L, полипептида CD86, полипептида PD-L1, полипептида FasL и полипептида PD-L2.

26. Способ по любому из пп. 1–25, в котором иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, имеющий одну или несколько аминокислотных замен относительно природной формы иммуномодулирующего полипептида, и причем этот вариант иммуномодулирующего полипептида проявляет пониженную аффинность связывания с комодулирующим полипептидом, с которым связывается природная форма иммуномодулирующего полипептида.

27. Способ по любому из пп. 1–25, в котором иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий аминокислотную последовательность, обладающую идентичностью аминокислотной последовательности по меньшей мере 85% относительно указанной в SEQ ID NO: 1,

причем вариант полипептида IL-2 имеет одну или несколько аминокислотных замен относительно указанного в SEQ ID NO: 1, и

при этом вариант полипептида IL-2 проявляет пониженную аффинность связывания с рецептором IL-2 (IL2R), содержащим альфа-, бета- и гамма-полипептиды, имеющие аминокислотные последовательности, изображенные на фиг. 3A–3C, по

сравнению с аффинностью связывания аминокислотной последовательности IL-2, указанной в одной из SEQ ID NO: 1 для IL2R.

28. Способ по п. 27, в котором вариант полипептида IL-2 содержит замену одного или нескольких из E15, H16, D20, F42, Y45 и Q126.

29. Способ по п. 28, в котором вариант полипептида IL-2 содержит:

- a) замены F42 и D20;
- b) замены F42 и H16;
- c) замены F42, D20 и Y45; или
- d) замены F42, H16 и Q126.

30. Способ по любому из пп. 1–21, в котором иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида 4-1BBL,

причем вариант иммуномодулирующего полипептида 4-1BBL проявляет пониженную аффинность связывания с полипептидом 4-1BB, имеющим аминокислотную последовательность, представленную на фиг. 37, по сравнению с аффинностью связывания аминокислотной последовательности 4-1BBL, представленной на фиг. 36А; и/или

при этом вариант иммуномодулирующего полипептида 4-1BBL проявляет повышенные уровни выработки клеткой млекопитающего по сравнению с уровнями выработки аминокислотной последовательности 4-1BBL, представленной на фиг. 36А.

31. Способ по п. 30, в котором вариант иммуномодулирующего полипептида 4-1BBL содержит замену одной из аминокислот 91, 92, 94–115, 117–126, 128–132, 144–153, 155–158, 184–187, 189–191, 193–195, 197, 210–219, 221–224, 226, 228–231, 233 и 234 на основе нумерации аминокислот, представленной на фиг. 36А.

32. Способ по п. 30 или п. 31, в котором вариант иммуномодулирующего полипептида проявляет менее 50% аффинности связывания, проявляемой аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной на фиг. 36А, или как указано в одной из SEQ ID NO: 213–215 для полипептида 4-1BB.

33. Способ по любому из пп. 1–32, в котором мультимерный полипептид содержит полипептид Fc Ig, содержащий одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S.

34. Способ по п. 33, в котором полипептид Fc Ig содержит:

- a) замену N297A;
- b) замену L234A и замену L235A;
- c) замену L234F и замену L235E; или
- d) замену L234F, замену L235E и замену P331S.

35. Способ по любому из пп. 1–34, в котором эпитоп мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 77).

36. Способ по любому из пп. 1–35, в котором полипептид β 2-микроглобулина мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34А.

37. Способ по любому из пп. 1–36, в котором полипептид тяжелой цепи главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) мультимерного полипептида содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 34С.

38. Способ по любому из пп. 1–37, в котором ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к этому ингибитору иммунной контрольной точки.

39. Способ по п. 38, в котором антитело представляет собой моноклональное антитело.

40. Способ по п. 38 или п. 39, в котором антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область гуманизированной легкой цепи и/или тяжелой цепи.

41. Способ по п. 38, в котором антитело содержит полипептид Fc, и причем полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4, полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM.

42. Способ по п. 38, в котором антитело представляет собой Fv-фрагмент, нанотело или Fab-фрагмент.

43. Способ по любому из пп. 38–42, в котором ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к этому ингибитору иммунной контрольной точки, выбранному из CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K дельта, PI3K гамма, TAM, аргиназы, CD137 (также известного как 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, CD96, TIGIT, CD122, PD-1, PD-L1 и PD-L2.

44. Способ по любому из пп. 38–42, в котором ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к PD1.

45. Способ по п. 44, в котором антитело представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, пидилизумаб или BMS-39886.

46. Способ по любому из пп. 38–42, в котором ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело, специфическое к PD-L1.

47. Способ по п. 46, в котором антитело представляет собой дурвалумаб, атезолизумаб, KN035 или авелумаб.

48. Способ по любому из пп. 38–42, в котором ингибитор иммунной контрольной

точки представляет собой антитело, специфическое к CTLA4.

49. Способ по п. 48, в котором антитело представляет собой ипилимумаб или тремелимумаб.

50. Способ по любому из пп. 1–49, в котором мультимерный полипептид и ингибитор иммунной контрольной точки вводят одним и тем же путем введения.

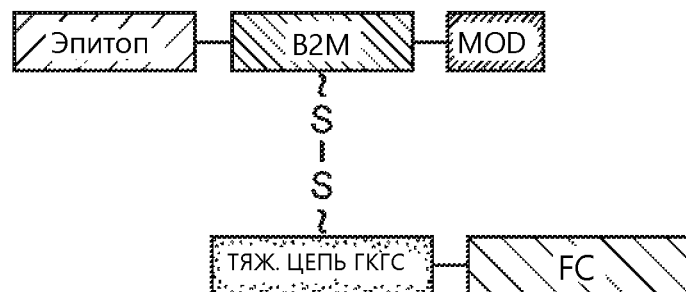
51. Способ по любому из пп. 1–49, в котором мультимерный полипептид и ингибитор иммунной контрольной точки вводят различными путями введения.

52. Способ по любому из пп. 1–51, в котором мультимерный полипептид вводят путем введения, выбранным из подкожного, внутривенного, перитуморального и внутримышечного.

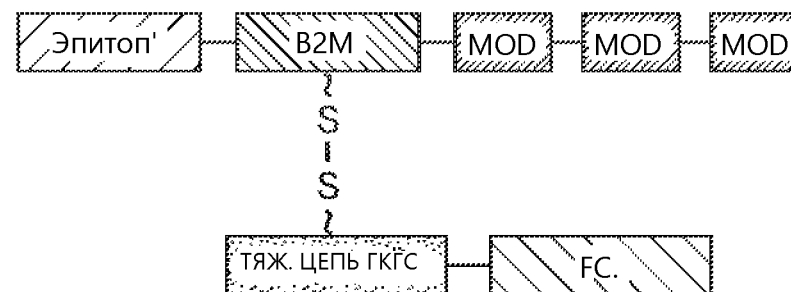
53. Способ по любому из пп. 1–51, в котором ингибитор иммунной контрольной точки вводят путем введения, выбранным из подкожного, внутривенного, перитуморального и внутримышечного.

54. Способ по любому из пп. 1–53, в котором млекопитающее представляет собой человека.

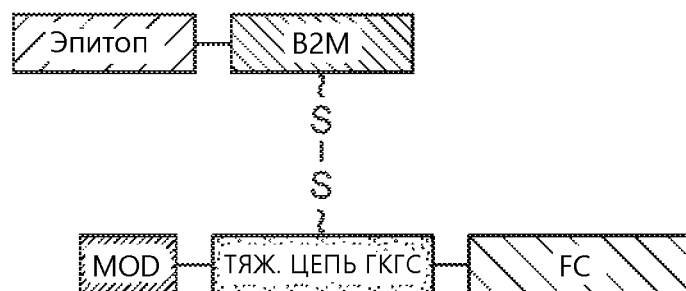
ФИГ. 1А



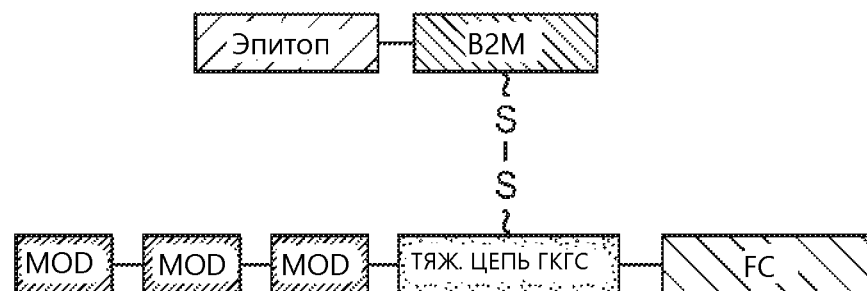
ФИГ. 1С



ФИГ. 1В



ФИГ. 1D



ФИГ. 2АIL2 — *Homo sapiens*

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:1)

ФИГ. 2В

IL2 (F42X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:2)

ФИГ. 2С

IL2 (D20X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:3)

ФИГ. 2D

IL2 (E15X)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:4)

ФИГ. 2E

IL2 (H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:5)

ФИГ. 2F

IL2 (Y45X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:6)

ФИГ. 2G

IL2 (Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:7)

ФИГ. 2H

IL2 (F42X; H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:8)

ФИГ. 2I

IL2 (F42X; D20X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:9)

ФИГ. 2J

IL2 (F42X; D20X; E15X)

APTSSSTKKT QLQLXHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:10)

ФИГ. 2K

IL2 (F42X; D20X; H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:11)

ФИГ. 2L

IL2 (F42X; D20X; Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:12)

ФИГ. 2М

IL2 (F42X; D20X; Y45X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:13)

ФИГ. 2N

IL2 (F42X; D20X; Y45X; H16X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:14)

ФИГ. 20

IL2 (F42X; D20X; Y45X; Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:15)

ФИГ. 2Р

IL2 (F42X; D20X; Y45X; H16X; Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFXMPKKA TELKHLQCLE
 EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLEELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:16)

ФИГ. 2Q

IL2 - (F42X, H16X, Q126X)

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA TELKHLQCLE
EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO: 17)

ФИГ. 3А

альфа-цепь IL2R

Homo sapiens

```
1 MDSYLLMWGL LTFIMVPGCQ AELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTM LNCE CKRGFRRIKS
61 GSLYMLCTGN SSHSSWDNQC QCTSSATRNT TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ SPMQPV DQAS
121 LPGHCREPPP WENEATERIY HFVVGQMVYY QCVQGYRALH RGP AESVCKM THGKTRWTQP
181 QLIC TGEMET SQFPGE EKPQ ASPEGRPESE TSCLVT TTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ
241 VAVAGCVFLL ISVLLLSGLT WQRRQRKSRR TI (SEQ ID NO:18)
```

Зрелые = аминокислоты 22-

ФИГ. 3В

Бета-цепь IL2R

Homo sapiens

```
1 MAAPALSWRL PLLILL LPLA TSWASAAVNG TSQFTCFYNS RANISCVWSQ DGALQDTSCQ
61 VHAWPDRRRW NQTCELLPVS QASWACNLIL GAPDSQKLTT VDIVTLRVLC REGVRWRVMA
121 IQDFKPFENL RLMAPISLQV VHVETHRCNI SWEISQASHY FERHLEFEAR TLSPGHTWEE
181 APLLTLKQKQ EWICLETLTP DTQYEFQVRV KPLQGEFTTW SPWSQPLAFR TKPAALGKDT
241 IPWLGHLLVG LSGAFGFIIL VYLLINCRNT GPWLKKVLKC NTPDPSKFFS QLSSEHGGDV
301 QKWLSSPFPS SSFSPGGLAP EISPLEVLER DKVTQLLLQQ DKVPEPASLS SNHSLTSCFT
361 NQGYFFFHLP DALEIEACQV YFTYDPYSEE DPDEGVAGAP TGSSPQPLQP LSGEDDAYCT
421 FPSRDDLLLF SPSLLGGPSP PSTAPGGSGA GEERMPPSLQ ERVPRDWD PQ PLGPPTPGVP
481 DLVDFQPPPE LVLREAGEEV PDAGPREGVS FPWSRPPGQG EFRALNARLP LNTDAYLSLQ
541 ELQGQDPTH L V (SEQ ID NO:19)
```

Зрелые = аминокислоты 27-

ФИГ. 3С

Гамма-цепь IL2R

Homo sapiens

```
1 MLKPSLPETS LLFLQLPLLG VGLNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLPLPEV
61 QCFVFNVEYM NCTWNSSSEP QPTNLTLHYW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK
121 EIHLYQTFVV QLQDPREPRR QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSESQL ELNWNNRFLN
181 HCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL PSVDGQKRYT FRVRSRENPL CGSAQHWSEW
241 SHPIHWGSNT SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI PTLKNLEDLV
301 TEYHGNFSAW SGVSKGLAES LQPDYERLC LVSEIPPKG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP
361 PCYTLKPET (SEQ ID NO:20)
```

Зрелые = аминокислоты 23-

Фигура 4А

GenBank 3S7_GA

Fc **IgG1** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 21)

227 ак

```
1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevkfnwyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvvt lppsrdeltk nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqqg nvfscsvmhe alhnhytqks lslspgk
```

GenBank AAN76044

Fc (аминокислоты 99–325) **IgG2** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 22)

227 ак

```
1 stkgpsvfpl apcsrsts taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqdw lngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvvtlp psreemtknq
241 vsltclvkgf ypsdiavewe sngqpennyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspgk
```

GenBank AAW65947

Fc (аминокислоты 19–246) **IgG3** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 23)

238 ак

```
1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvdvshedp evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vvsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepqvvtl ppsrdeltkn qvsltclvkg fyypsdiavew
181 esngqpenny kttppvldsd gsfflysklt vdksrwqqgn vscsvmhea lhnhytqksl
241 slspgk
```

Фигура 4В

GenBank AAA52770

Fc (аминокислоты 162–383) **IgD** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 24)

222 ак

```
1 ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrdd
61 syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkekekeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsqfsg
301 pnillmwled qrevntsgfa parppqprrs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvshed
361 srllnasrs levsyvtDhg pmk
```

GenBank 0308221A

Fc **IgM** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 25)

276 ак

```
1 vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcvdp gdtairvfai ppsfasiflt
61 kstkltclvt dltybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvyllppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspgky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy
```

Фигура 4С

GenBank P01876

Fc (аминокислоты 120–353) **IgA** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 26)

234 ак

```
1 asptspkvfp lsleatqpdg nvviaclvqg ffpqeplsvt wsesgggvta rnfppsqtas
61 gdlyttssql tlpattclag ksvtchvkhy tnpsqdvtp cpvpstpptp spstpptpsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vggpperdic
181 gcysvssvlp gcaepwnhgw tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgt fscmvghcal plaftqktid rlagkpthvn vsvvmaevdg tcy
```

GenBank 1F6A_B

Fc (аминокислоты 6–222) **IgE** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 27)

212 ак

```
1 adpcdsnprg vsaylsrpsp fdlfirkst itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsgpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl ignfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsqffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqgravsvnp gk
```

GenBank P01861

Fc (аминокислоты 100–327) **IgG4** *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 28)

228 ак

```
1 astkgpsvfp lapcsrstse staalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htftpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdhkps ntkvdkrves kygppcpscp apeflggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepvyt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysrl tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks lsllslgk
```

Фигура 5А

Homo sapiens

GenBank NP_001229687

HLA-A

Аминокислоты 25–365 (SEQ ID NO: 29)

```
1  mavmaprtll lllsgalalt gtwagshsmr yfftsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwiegeg peywdqetrn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshtiq
121 imygcdvgpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswwta dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqrtdppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfqkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwel
301 ssqptipivg iiaglvllga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaqgsdvsl
361 tackv
```

Фигура 5В

Homo sapiens

GenBank NP_005505

HLA-B

Аминокислоты 25-362 (SEQ ID NO: 30)

```
1  mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspree prapwiegeg peywdrrntqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdvgpd grllrghdqy aydgkdyial nedlrswwta dtaaaitqrk weaareaeqr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfqkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpivg ivaglavlav vvigavvaav mcrrkssgk ggsysqaacs dsaqgsdvsl
361 ta
```

Фигура 5С

Homo sapiens

GenBank NP_001229971

HLA-C

Аминокислоты 25-366 (SEQ ID NO: 31)

```
1 mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwvegeg peywdretqn ykrqaqadv slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlgpd grllrgydqs aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraeppk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfkwaa vvvpsgqegr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlvv lavlgavvta mmcrrkssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litcka
```

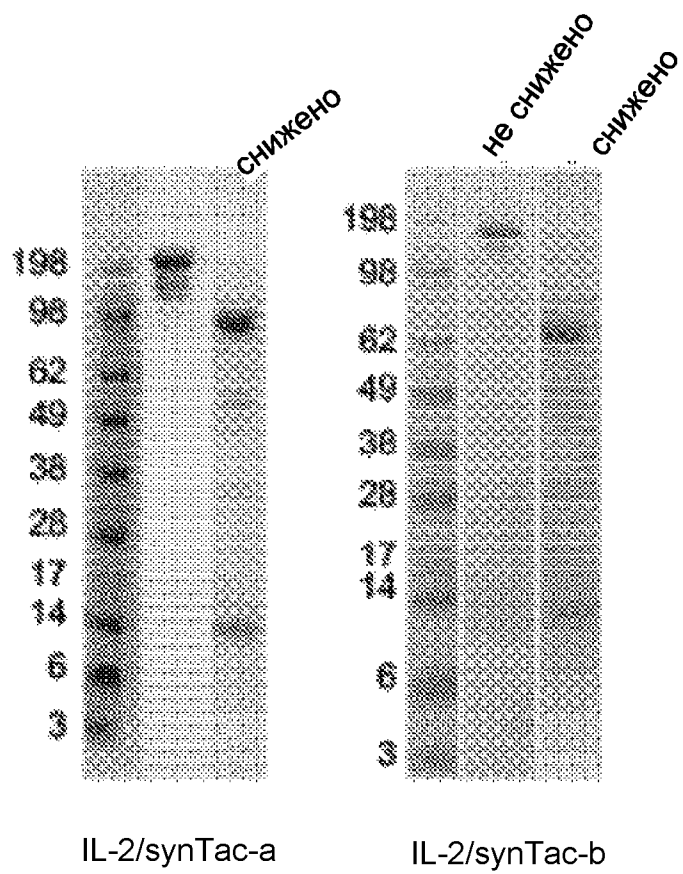
ФИГ. 6

NP_004039.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001009066.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001040602.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_776318.1	MAREVALVLLGLLSLSGLDAIQRPKIQVYSRHPPEDGKPNYLNCYVYGFHPPQIEIDLL 60
NP_033865.2	MARSVTLVFLVLVSLTGLYAIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTPQFHPPHIEIQML 60
	; *;*..* *;*:* **:*..*;* *****,*;*:* * ***** **..*:*::*
NP_004039.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRL 119
NP_001009066.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRL 119
NP_001040602.1	KNGEKMCKVEHSDLSFSKDWSEFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSGPRTVKWDRL 119
NP_776318.1	KNGEKI-KSEQSDLSFSKDWSEFYLLSHAEFTPTNSKDQYSCRVKHVTLEQPRIVKWDRL 118
NP_033865.2	KNGKKIPKVEHSDLSFSKDWSEFYLLAHTTEFTPTTETDTYACRVKHAEMAEPNTVYWDRL 119
	::: * * **:* **: * :* ****..* *:***:*.: : * : * ****:

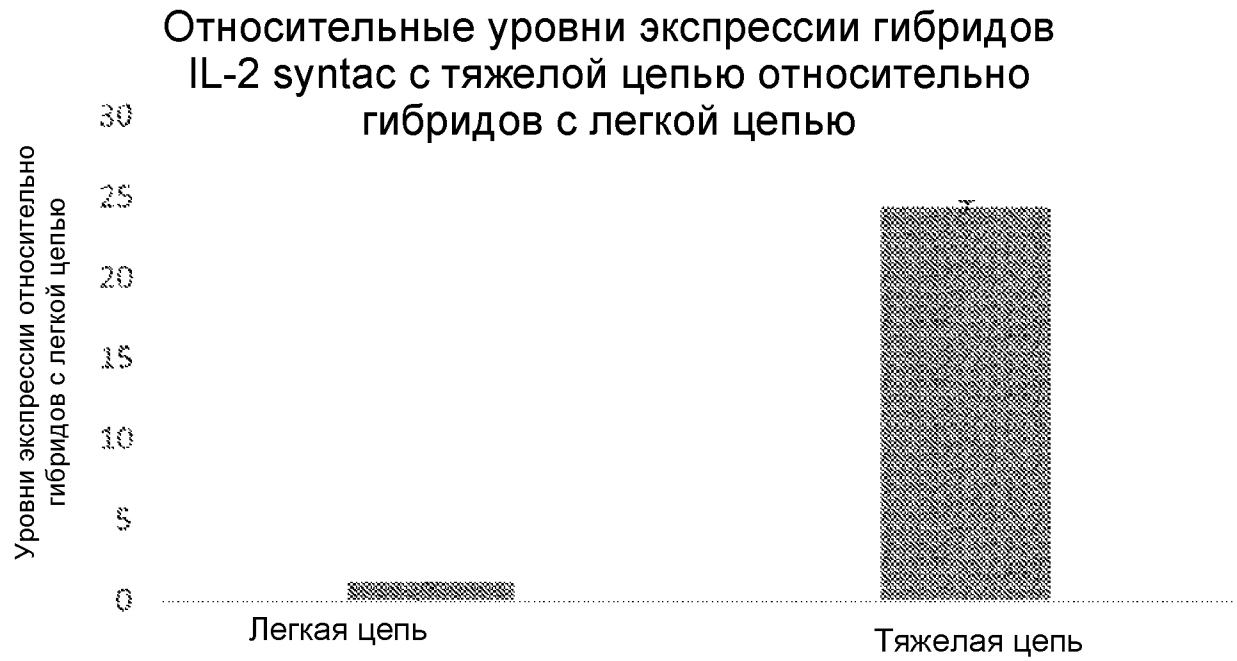
ФИГ. 7А

ФИГ. 7В

Очищенный продукт

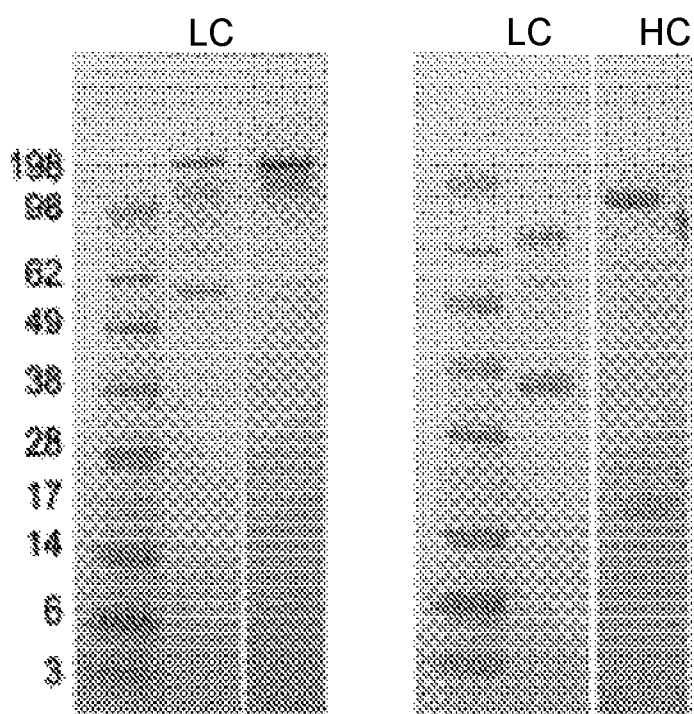


ФИГ. 8А

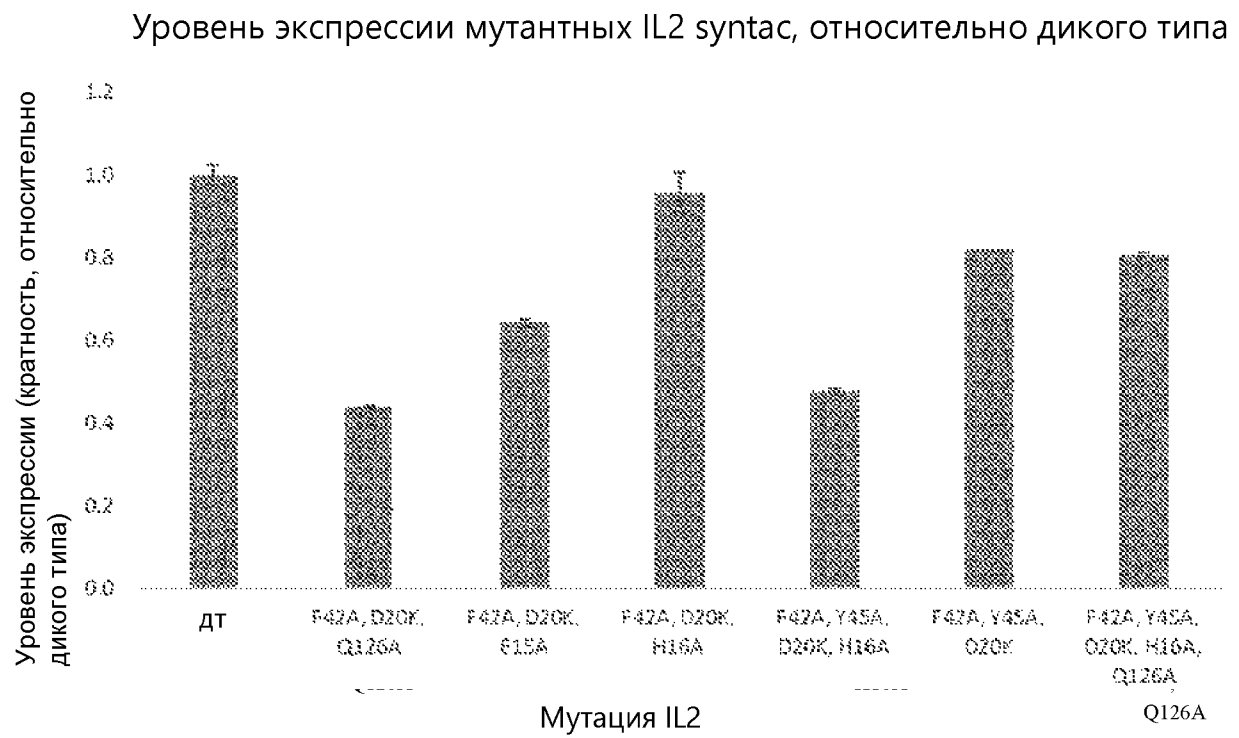


ФИГ. 8В

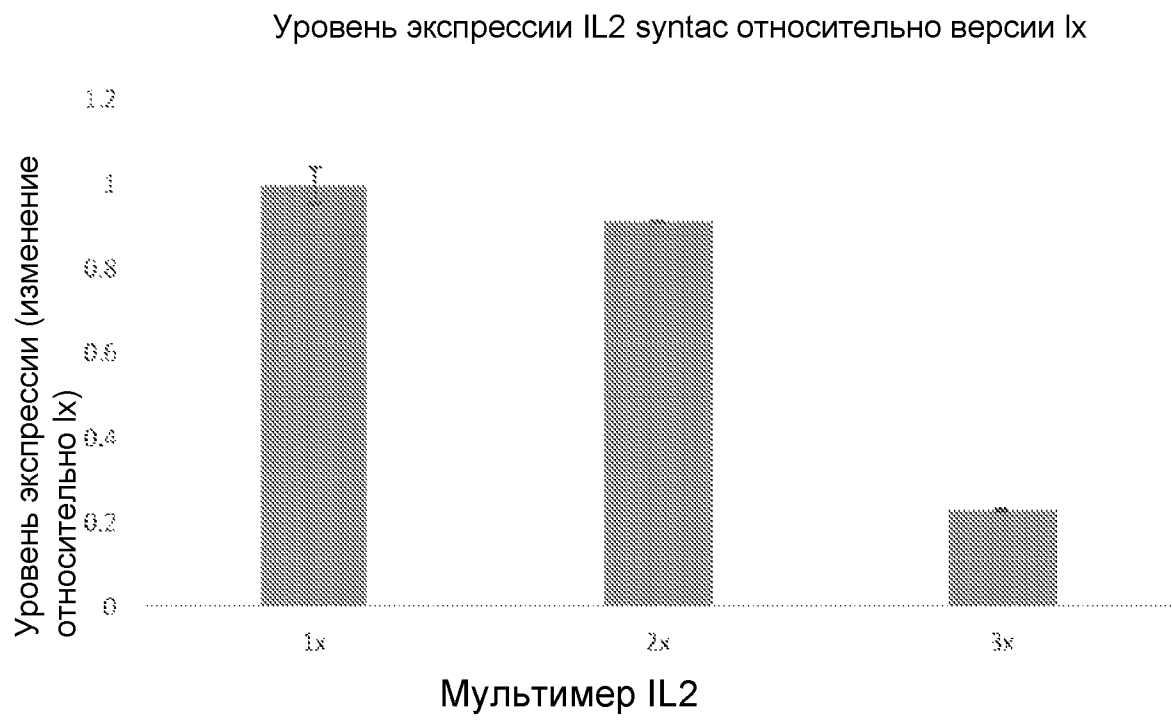
Повышенная стабильность гибридов с тяжелой цепью



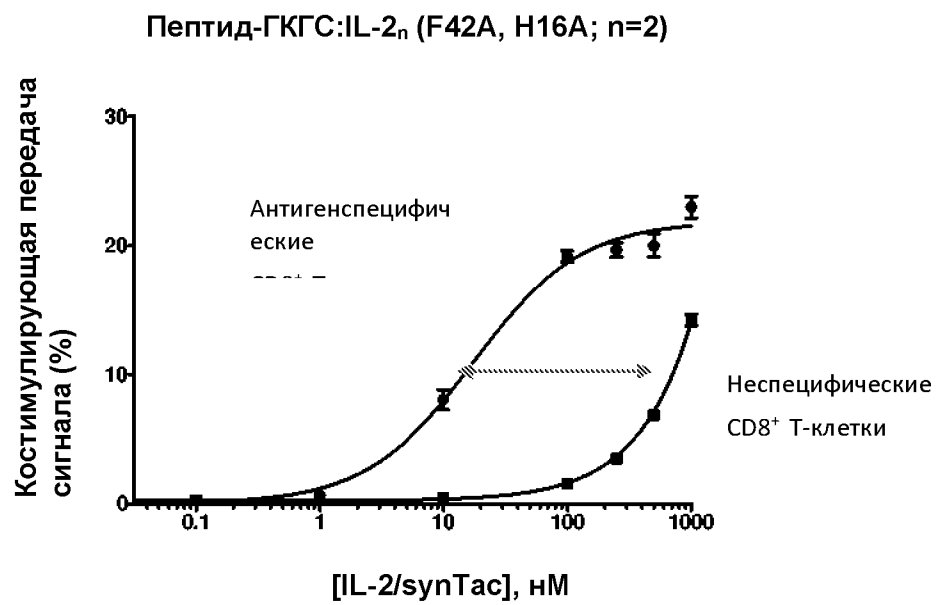
ФИГ. 9



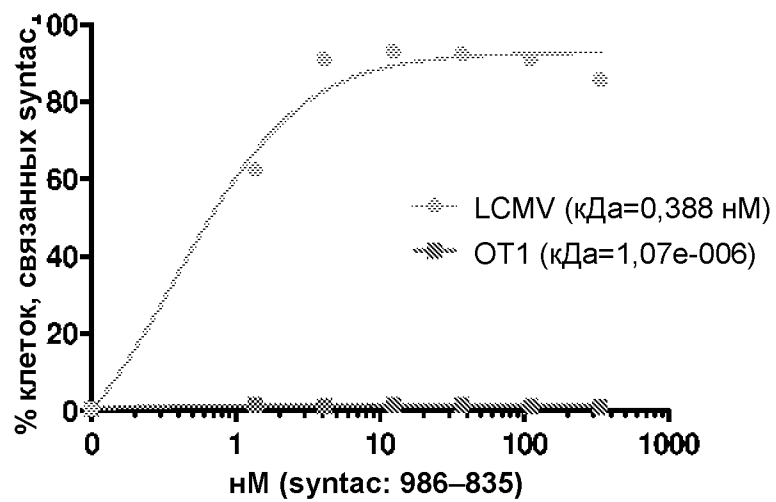
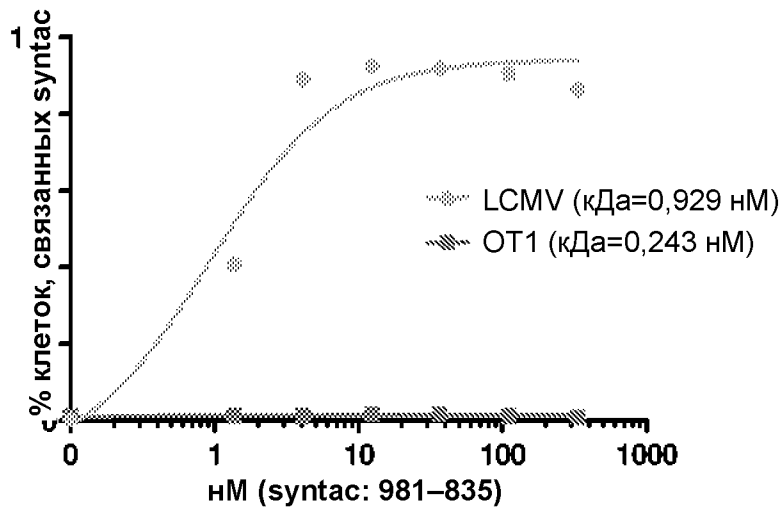
ФИГ. 10



ФИГ. 11

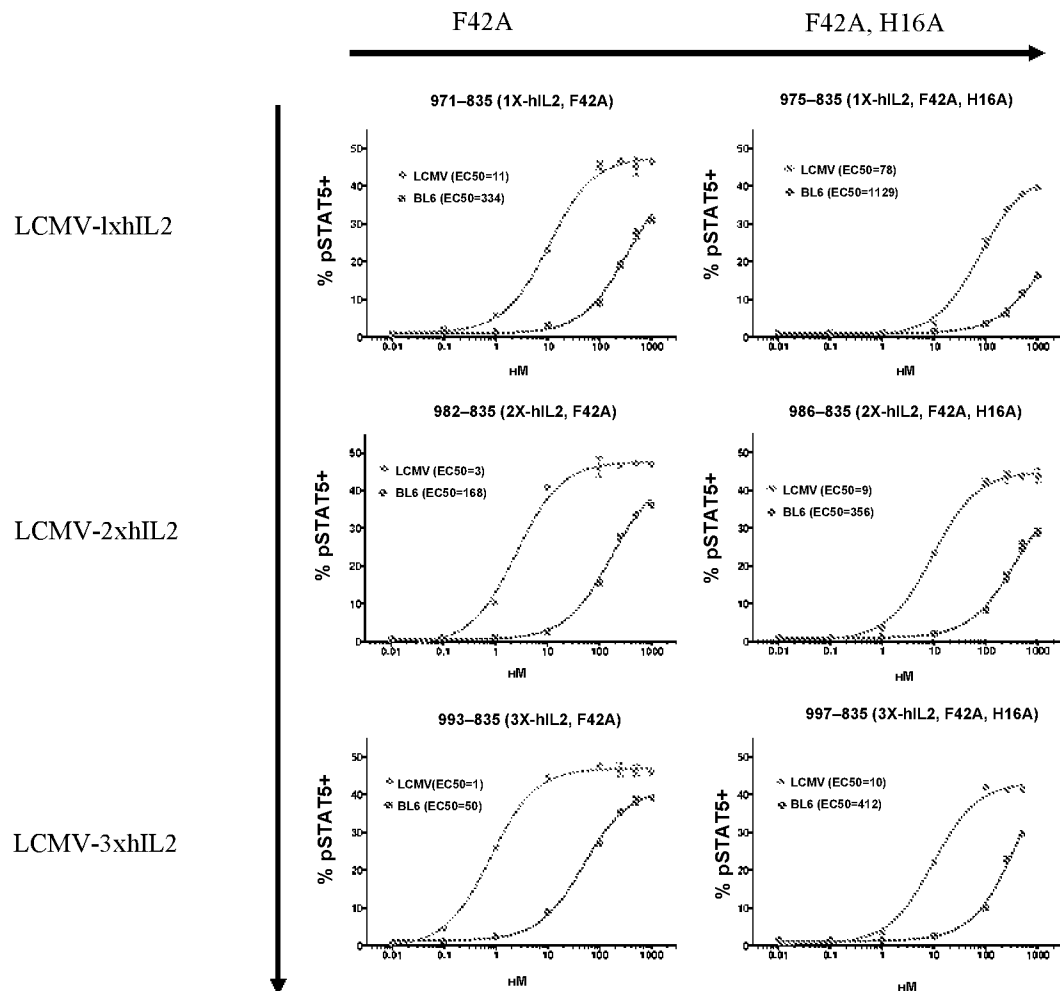


ФИГ. 12



ФИГ. 13

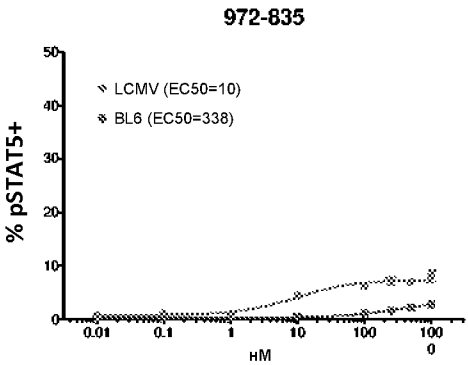
Количество повторов IL-2 относительно мутаций



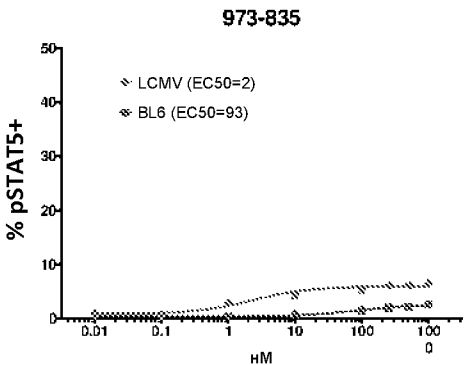
ФИГ. 14А

Одна копия IL-2

Мутация: F42A, D20K

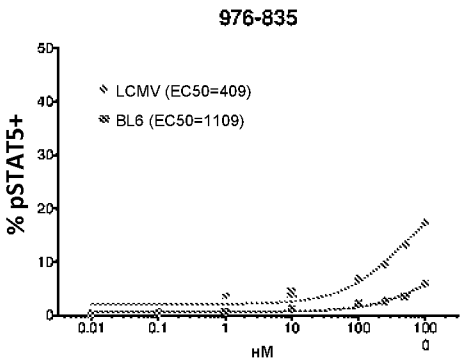
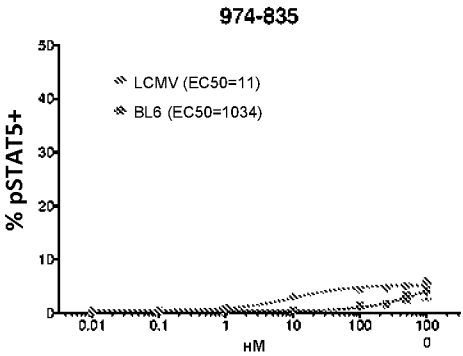


Мутация: F42A, D20K, Q126A



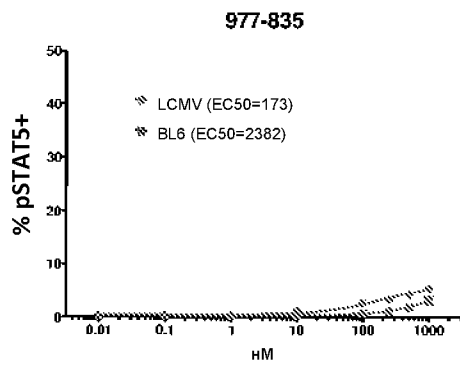
Мутация: F42A, D20K, H16A

Мутация: F42A, D20K, E15A



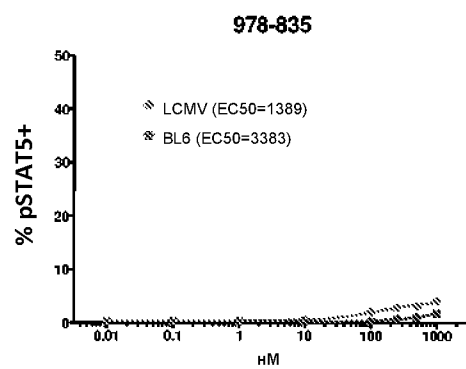
ФИГ. 14В

Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A



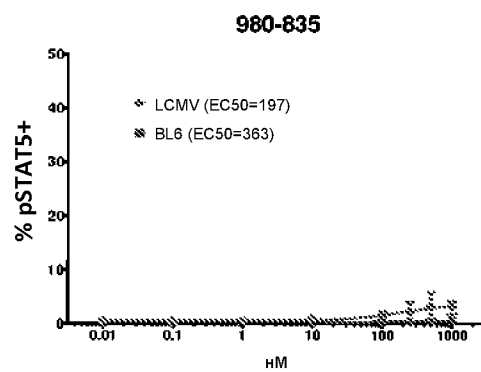
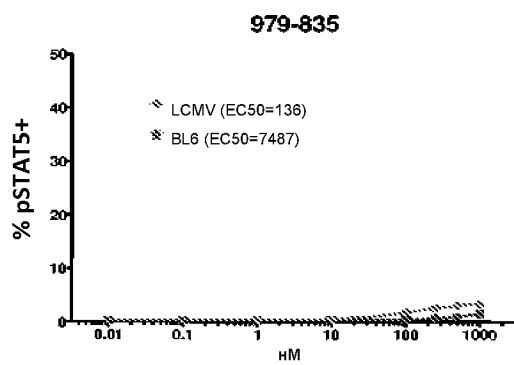
Одна копия IL-2

Мутация: F42A, Y45A, D20K



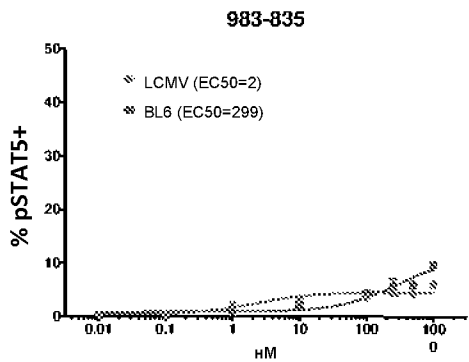
Мутация: F42A, Y45A, D20K, Q126A

Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



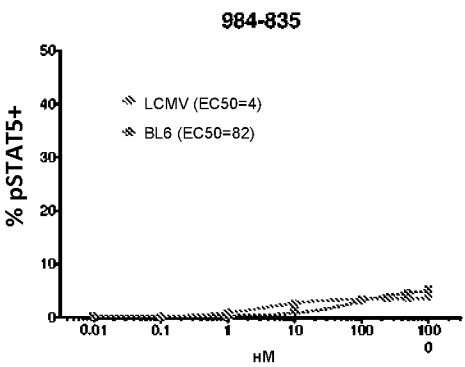
ФИГ. 14С

Мутация: F42A, D20K

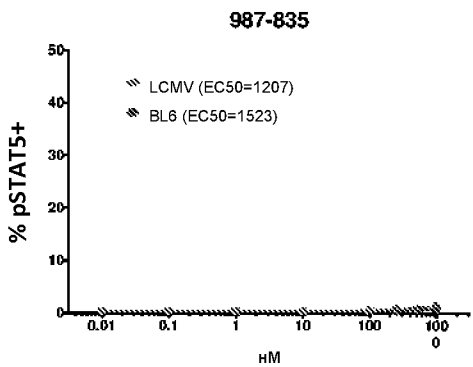


Две копии IL-2

Мутация: F42A, D20K, Q126A

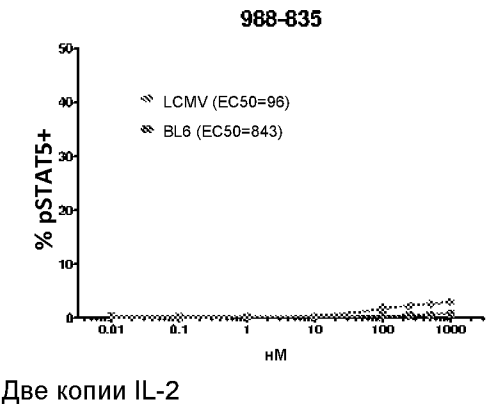


Мутация: F42A, D20K, H16A

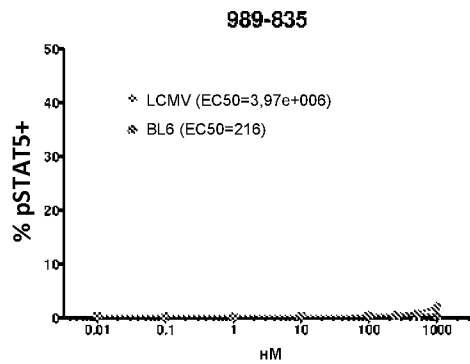


ФИГ. 14D

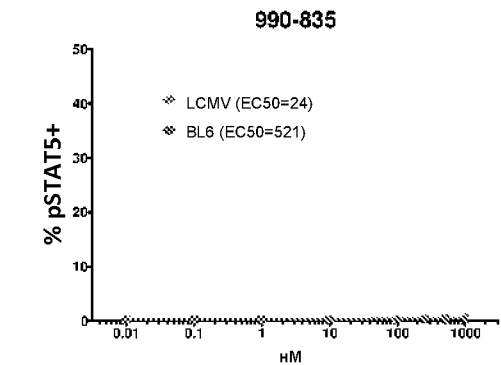
Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A



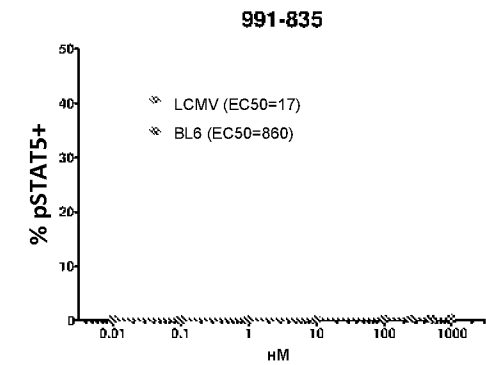
Мутация: F42A, Y45A, D20K



Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A

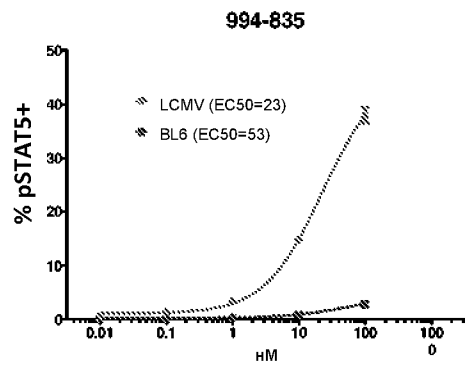


Мутация: F42A, Y45A, D20K, Q126A

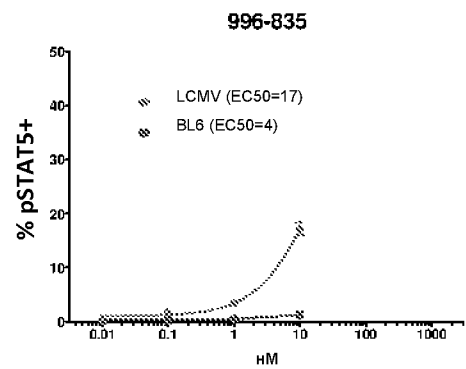


ФИГ. 14Е

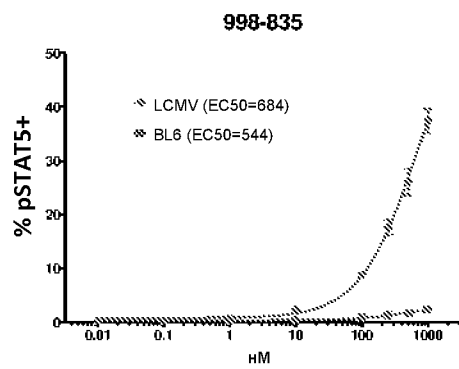
Мутация: F42A, D20K



Мутация: F42A, D20K, E15A



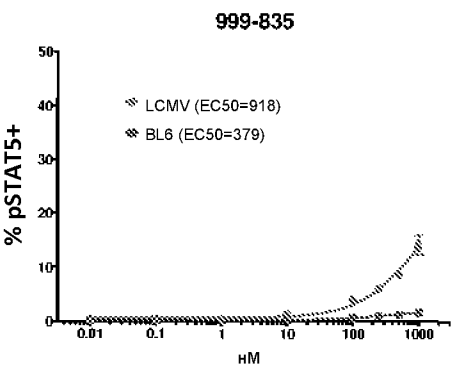
Мутация: F42A, D20K, H16A



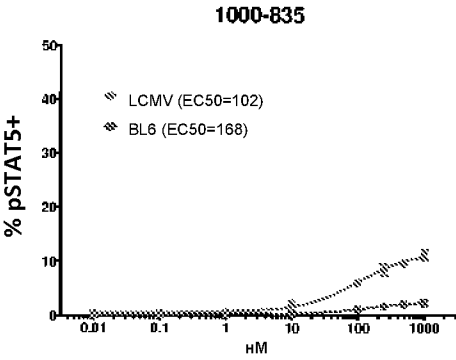
Три копии IL-2

ФИГ. 14F

Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A

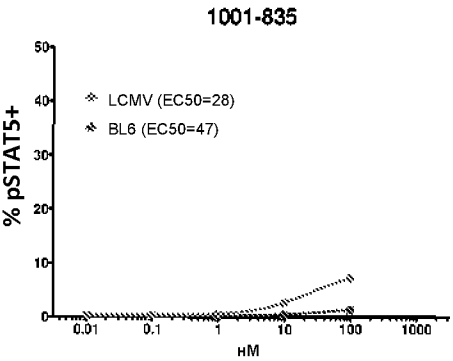


Мутация: F42A, Y45A, D20K

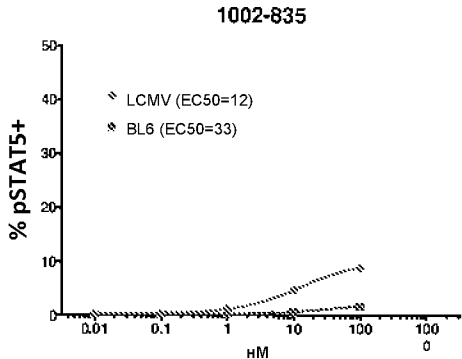


Три копии IL-2

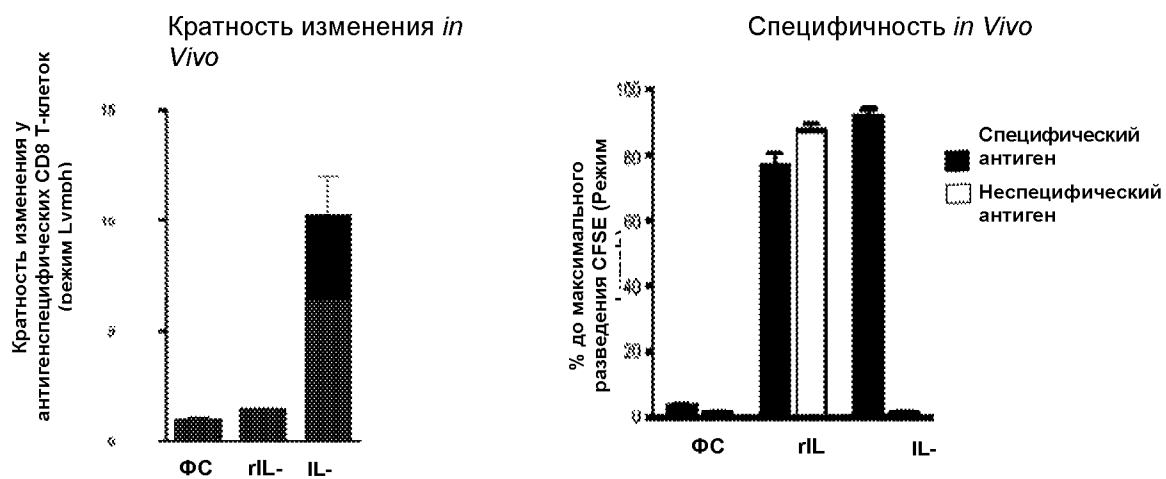
Мутация: F42A, Y45A, D20K, H16A, Q126A



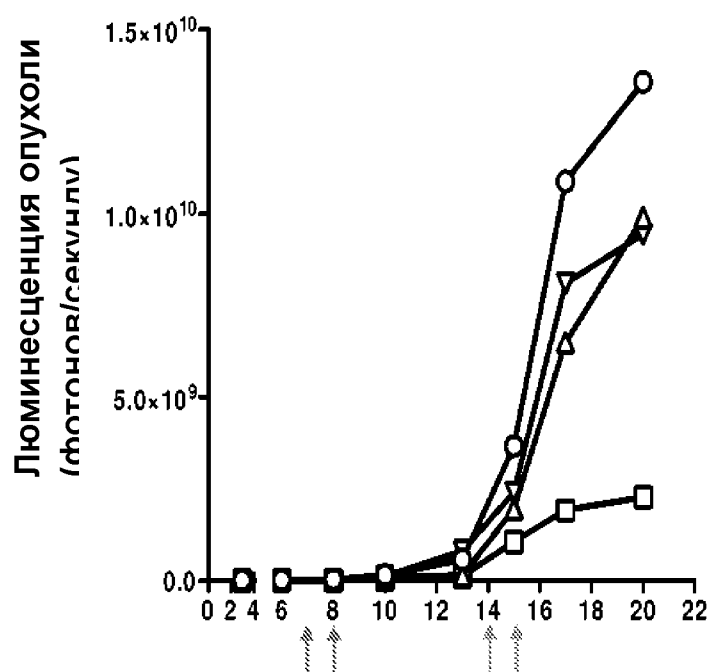
Мутация: F42A, Y45A, D20K, Q126A



ФИГ. 15



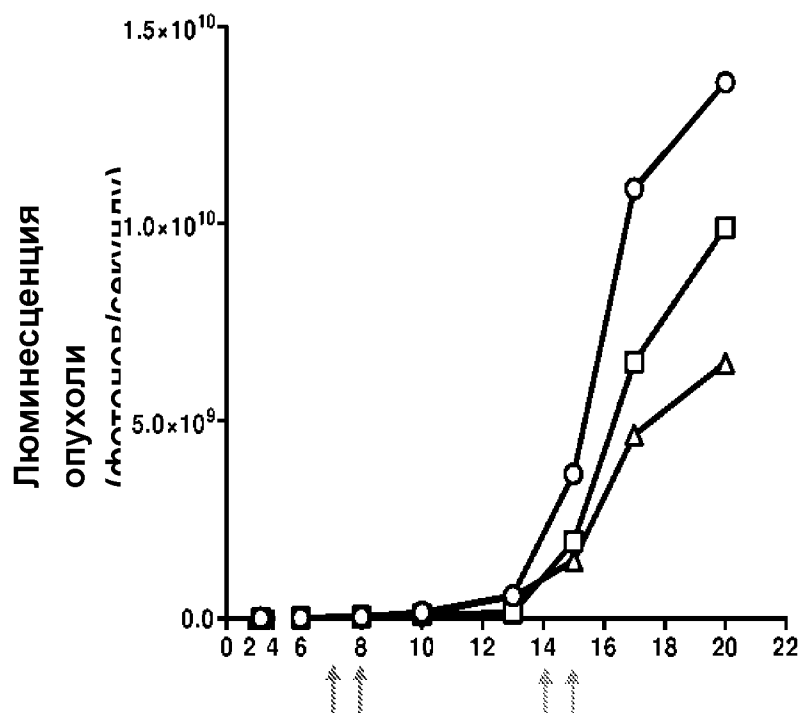
ФИГ. 16А



Дней после приживления (место введения Rx отмечено красными стрелками)

- ΦСБ с 250 mM NaCl
- △ 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4 мг/кг
- ▽ 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 8 мг/кг
- 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 16 мг/кг

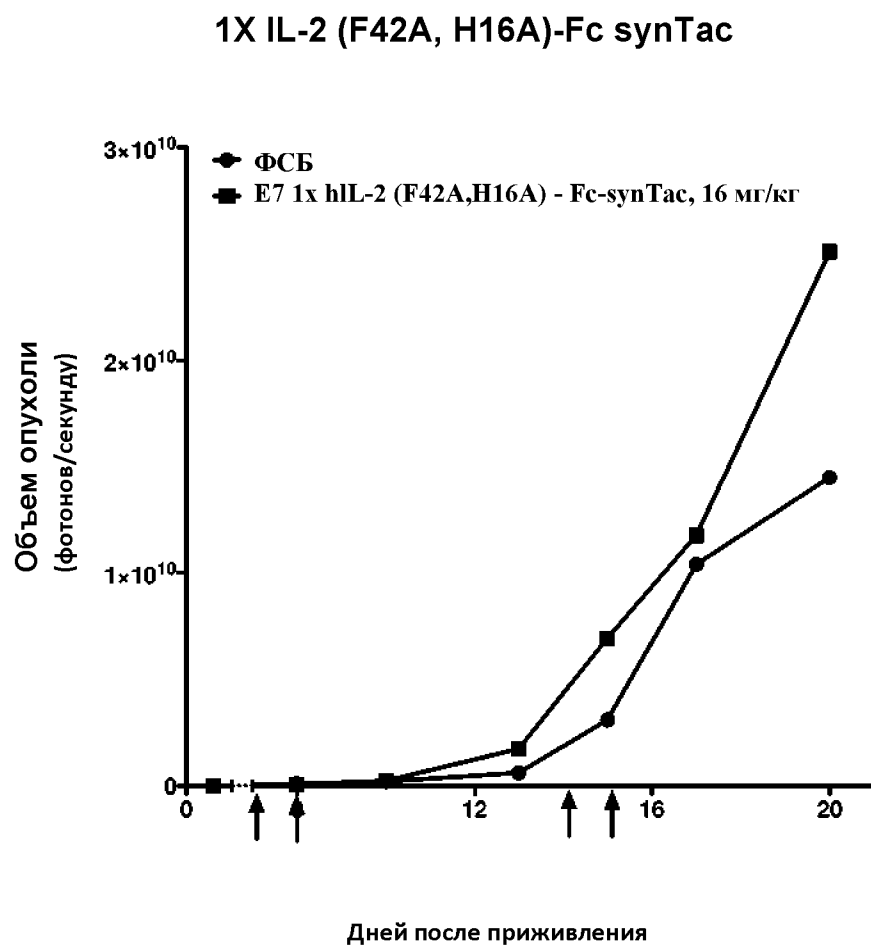
ФИГ. 16В



Дней после приживления (место введения Rx отмечено красными стрелками)

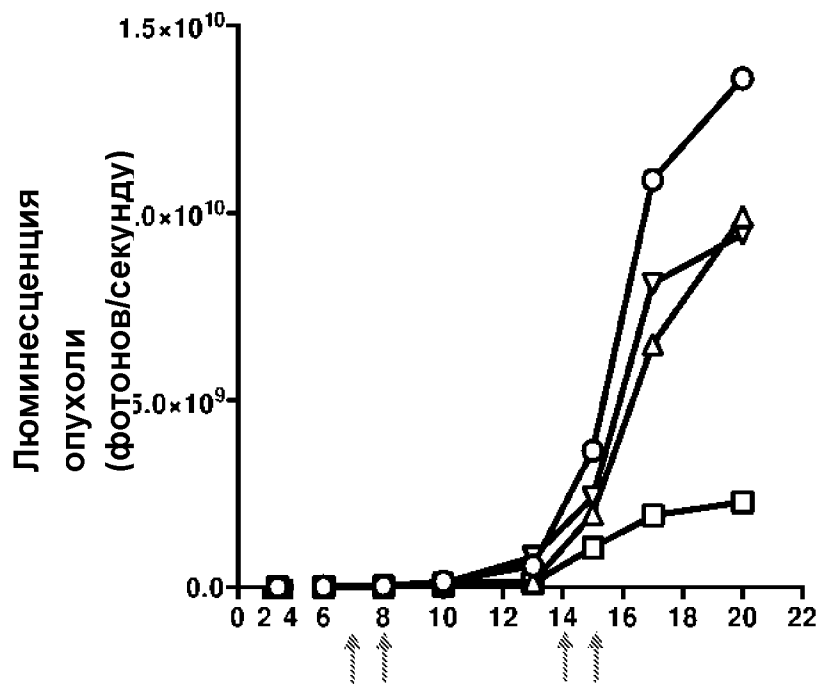
- ФСБ с 250 мМ NaCl
- 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4 мг/кг
- △ 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) SubQ, 4 мг/кг

ФИГ. 17А



ФИГ. 17В

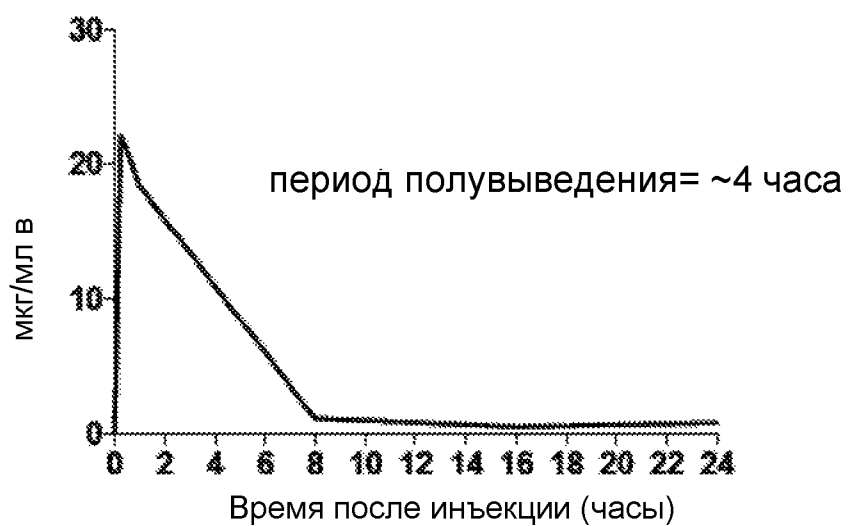
2X IL-2 (F42A, H16A)-Fc synTac



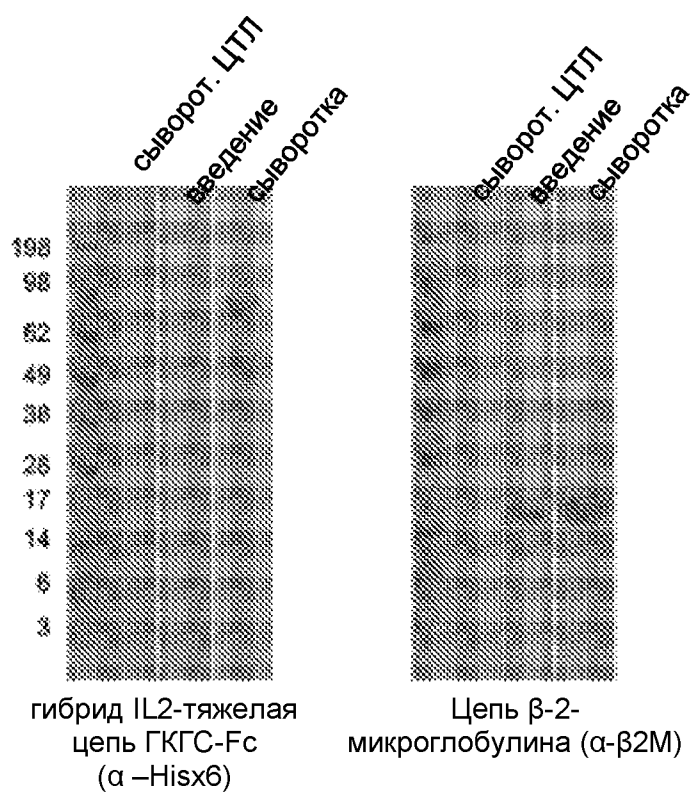
Дней после приживления (место введения Rx отмечено красными стрелками)

- ΦСБ с 250 мМ NaCl
- △ 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 4 мг/кг
- ▽ 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 8 мг/кг
- 986-635, E7 2x hIL-2 (F42A,H16A) - Fc (LEKK) IP, 16 мг/кг

ФИГ. 18

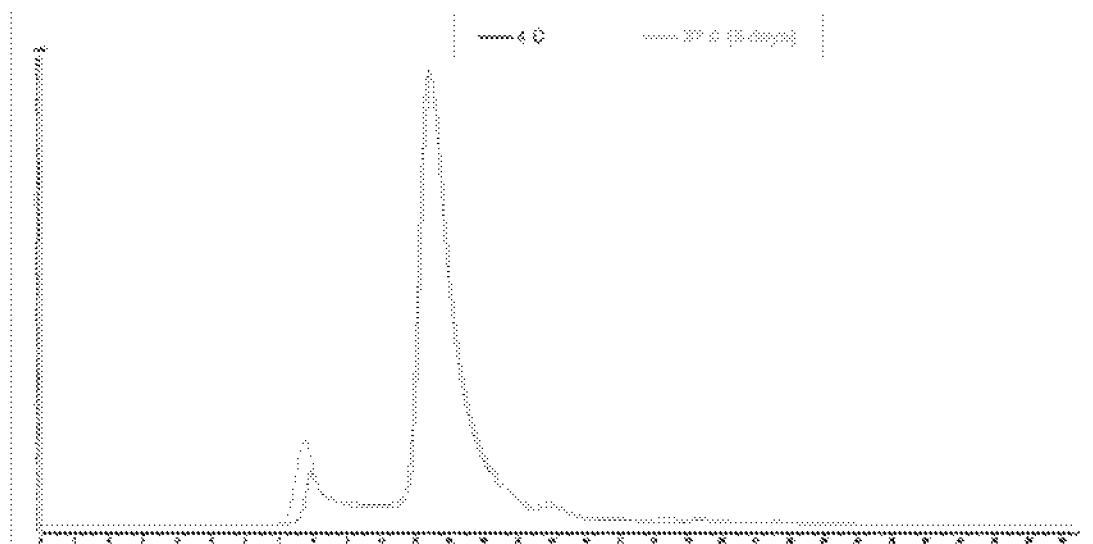
976-835 LCMV-hIL-2 (F42A D20K;H16A) (10 мг/кг, IP)

ФИГ. 19



Анализ методом вестерн-блоттинга

ФИГ. 20



ФИГ. 21 (SEQ ID NO:32)

CUE101-N297A с лидерным пептидом

MYRMQLLESCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSOTHRVDLGLTRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTDELVETRPCGDGTFOKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMTSRTPEVTCVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Лидерная последовательность IL2 человека — курсив

IL-2 (H16A/F42A) — жирный (H16 и F42 подчеркнуты)

Линкеры (G4S)₄ — подчеркнуты одной чертой

Тяж. цепь ГКГС Y84A; A236C — подчеркнуты двумя чертами (Y84A и A236C выделены жирным)

Линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой

Fc IgG1 человека; N297A — (жирный и подчеркнутый, N297A не жирный)

ФИГ. 22 (SEQ ID NO:33)

CUE101-N297A без лидерного пептида

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFV
RFDSDAASQRMEPPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSOTHRVDLGLTRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTDELVETRPCGDGTFOKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMTSRTPEVTCVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) — жирный (H16 и F42 подчеркнуты)

Линкеры (G4S)₄ — подчеркнуты одной чертой

Тяж. цепь ГКГС Y84A; A236C — подчеркнуты двумя чертами (Y84A и A236C выделены жирным)

Линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой

Fc IgG1 человека; N297A — (жирный и подчеркнутый, N297A не жирный)

ФИГ. 23А (SEQ ID NO:34)

CUE101-N297A

1360:

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTC
 AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTGAATG
 GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAGCAAGTTTTACATGCCCAAGAAG
 GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
 AGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
 ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTT
 TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
 GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
 CAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
 CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAGCAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
 CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
 CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAATAAGGGATCTGAAACAA
 CATTTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
 GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
 TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
 GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCG
 CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGA
 GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCGCCTACA
 ACCAGAGCGAGGCCGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTTCGGACTGGCGC
 TTCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
 CTTGGACCGCGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCATGTGGCGGAG
 CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
 GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
 CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
 CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
 CTGTGGTGGTGCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
 CCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCA
 CCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
 GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
 GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGAGCAC
 GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
 AAGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
 GAACACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTG
 CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
 AACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
 ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
 TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

ФИГ. 23В

Лидерная последовательность IL2 человека — курсив

IL2 человека; H16A=GCA; F42A=GCA — жирный (GCA подчеркнутый)

линкер (G4S)₄ — подчеркнут одной чертой

A0201 человека; Y84A=GCC; A236C=TGC

линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой

Fc IgG1 человека; N297A= GCA; с AGG по AGA (все еще R) и с AGC по TCC (все еще S) — (жирный и подчеркнутый, GCA курсивом)

Стоп-кодона (TAGTGA)

ФИГ. 24 (SEQ ID NO:35)

CUE101-LALA с лидерным

MYRMQLLS~~CIALSL~~ALVTNSAPTSSSTKK~~TQLQLE~~ALLLDLQMI~~LNGIN~~NYKNPKLTRML
 TAKFYMPKKATELKH~~LQCLEEE~~LKPLEEV~~LNLAQSKNF~~HLRPRDLISNIN~~VIVLE~~LKGSE
 TTFMCEYADETAT~~IVEFLNRWITFCQSI~~IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSAPTSSST
 KKTQLQLEALLLDLQMI~~LNGIN~~NYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKH~~LQCLEEE~~LKPLE
 EV~~LNLAQSKNF~~HLRPRDLISNIN~~VIVLE~~LKGSETTFMCEYADETAT~~IVEFLNRWITFCQSI~~
 IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSH~~EMRYF~~FTSVSRPGRGEP~~RFI~~AVGYVDDTQ~~FV~~
 RFDSDAASQ~~RM~~EP~~RAP~~WIEQEGPEYWDGET~~SKVKA~~HSQTHRV~~DLG~~TLRGAYNQSEAGSHT
 VQRMYGCDVGS~~DWR~~FLRGYHQYAYDGKDYIALKED~~LR~~SWTAADMAAQTTKH~~KWEA~~AAHVAE
 QLRAYLEGT~~CV~~E~~W~~LRRYLENGKETLORTDAPKTHMTH~~HAV~~SDHEATLR~~CW~~ALSFYPAEIT
 LTWQRDGEDQTQ~~DT~~ELVET~~RPC~~GDSTFQKWA~~AV~~VVPSGQEQR~~YTCH~~VQHEGLPKPLTLRW
 EAAAGGDKTHTC~~PP~~CPAPEAAGG~~PS~~VFLFPPKPKD~~TL~~MI~~S~~RTP~~EV~~TCVVVDVSHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD~~W~~LNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~F~~SCSV~~M~~HEALHNHYTQKSLSLSPGK

Лидерный пептид — курсив

IL-2 (H16A/F42A) — жирный (H16 и F42 подчеркнуты)

Линкеры (G4S)₄ — подчеркнуты одной чертой

Тяж. цепь ГКГС Y84A; A236C — подчеркнуты двумя чертами (Y84A и A236C выделены жирным)

Линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой

Fc IgG1 человека; L234A; L235A — (жирный и подчеркнутый, L234A и L235A — не жирный)

ФИГ. 25 (SEQ ID NO:36)

CUE101-LALA без лидерного пептида

APTSSSTKKTQIQLEALLLDLQMI¹LNGINNYKNPKLTRML
 TAKFYMPKKATELKH²LQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
 TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGAPTSSST
 KKTQIQLEALLLDLQMI¹LNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKH²LQCLEEELKPLE
 EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQS
 IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGGGEPRFIAVG³YVDDTQEV
 RFDSDAASQRM⁴EPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVK⁵KAHSQTHRV⁶DLGTLRGAYNQSEAGSHT
 VQRM⁷YGCDVGS⁸DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLR⁹SWTAADMAAQT¹⁰TKHKWEAAHVAE
 QLRAYLEGTCVEW¹¹LRRYLENGKETLORTDAPKTHMTHHAVSDHEATLR¹²CWALSFYPAEIT
 LTWQRDGEDQTQDTEL¹³VETRPCGDSTFQKWA¹⁴AVVVP¹⁵SGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTL¹⁶EW
 EAAAGGDKTHTCP¹⁷PCPAPEAAGG¹⁸PSVFLFPPKPKD¹⁹TLMISRTPEVTCV²⁰VVDVSHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ²¹QGNV²²FC²³SV²⁴MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) — жирный (H16 и F42 подчеркнуты)**Линкеры (G4S)⁴ — подчеркнуты одной чертой****Тяж. цепь ГКГС Y84A; A236C — подчеркнуты двумя чертами (Y84A и A236C выделены жирным)****Линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой****Fc IgG1 человека; L234A; L235A — (жирный и подчеркнутый, L234A и L235A — не жирный)**

ФИГ. 26А (SEQ ID NO:37)

CUE101-LALA: нуклеотидная последовательность, кодирующая CUE101-

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTC
 AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
 GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAGCAAGTTTTACATGCCCAAGAAG
 GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
 AGCTCAAAGCAAAAACCTTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
 ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
 TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
 GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
 CAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
 CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAGCAAGTTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
 CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTTCA
 CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACCTAAAGGGATCTGAAACAA
 CATTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
 GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
 TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
 GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTGACAGCGACGCCG
 CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGGA
 GACACGGAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCTGCGCGGCGCCTACA
 ACCAGAGCGAGGCCGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACTGGCGC
 TTCTCCGCGGGTACCACAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
 CTTGGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
 CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
 GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
 CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
 CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCCTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
 CTGTGGTGGTGCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
 CCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
 CCTGAAAGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCC
 GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
 GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACACACAGCAC
 GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
 AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
 GAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG
 CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
 AACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
 ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
 TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAGTGA

ФИГ. 26В

Лидерная последовательность IL2 человека — курсив

IL2 человека; H16A=GCA; F42A=GCA — жирный (GCA подчеркнутый)

(G4S)₄ — подчеркнут

A0201 человека; Y84A=GCC; A236C=TGC — подчеркнут двойной чертой (GCC и TGC — жирный)

линкер AAAGG подчеркнут — одной чертой

Fc IgG1 человека; L234A, L235A = GCCGCC

N297= AAC; с AGG по AGA (все еще R) и с AGC по TCC (все еще S) — (жирный и подчеркнутый, GCCGCC курсивом)

Стоп-кодона (TAGTGA)

ФИГ. 27 (SEQ ID NO:38)

CUE101-TM с лидерным

MYRMQLLSCTIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMI¹LNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKH²LQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSE
TTFMCEYADETATIVEEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMI¹LNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKH²LQCLEEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEEFLNRWITFCQS
IISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG³YVDDTQFV
RFDSDAASQRMETPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKANSQTHRV⁴DLGTLRGAYNQSEAGSHT
VQRMYGCDVGS⁵DNREFLRGYHOYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQT⁶TKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLR⁷RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHH⁸AVSDHEATLR⁹CWALSFYPAEIT
LTWQRDGEDQTQDTEL¹⁰VETRP¹¹CGDGT¹²FQKWA¹³AVVVP¹⁴SGQE¹⁵QRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
EAAAGGDKTHTCP¹⁶PCPAPEFEGGPSVFLFP¹⁷PKPKDTLMI¹⁸SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT¹⁹VLH²⁰QDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PFLVDS²¹GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV²²FC²³SV²⁴MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Лидерный пептид — курсив

IL-2 (H16A/F42A) — жирный (H16 и F42 подчеркнуты)

Линкеры (G4S)₄ — подчеркнуты одной чертой

Тяж. цепь ГКГС Y84A; A236C — подчеркнуты двумя чертами (Y84A и A236C выделены жирным)

Линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой

Fc IgG1 человека; L234F; L235E; P331S — (жирный и подчеркнутый, L234F и L235E и P331S — не жирный)

ФИГ. 28 (SEQ ID NO:39)

CUE101-TM без лидерного пептида

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSE
TTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ
SIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGGGEPRFIAVGYVDDTQEV
RFDSDAASQRMEPAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNOSEAGSHT
VORMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGNDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAE
QLRAYLEGTCVEWLERYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT
LTWORDGEDQTQDTELVETRPCGDGTEQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW
AAAGG DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IL-2 (H16A/F42A) — жирный (H16 и F42 подчеркнуты)

Линкеры (G4S)₄ — подчеркнуты одной чертой

Тяж. цепь ГКГС Y84A; A236C — подчеркнуты двумя чертами (Y84A и A236C выделены жирным)

Линкер AAAGG — подчеркнут одной чертой

Fc IgG1 человека; L234F; L235E; P331S — (жирный и подчеркнутый, L234F и L235E и

P331S — не жирный)

ФИГ. 29А (SEQ ID NO:40)

CUE101-TM: нуклеотидная последовательность, кодирующая CUE101-TM

ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACAAACAGTGCACCTACTTC
 AAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATG
 GAATTAATAATTACAAGAATCCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCAAGAAG
 GCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTT
 AGCTCAAAGCAAAAACCTTCACTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGA
 ACTAAAGGGATCTGAAACAACATTTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCT
 TGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTG
 GAGGTTCTGGTGGTGGGGGATCTGGAGGCGGAGGATCTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACA
 CAGCTACAACCTGGAGGCACTTACTGCTGGATTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAAT
 CCCAAACCTACCAGGATGCTCACAAGGTTTACATGCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTT
 CAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAACCTTCA
 CTTAAGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAAGTAAAGGGATCTGAAACAA
 CATTTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTT
 GTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTGGAGGCGGAGGATCTGGTGGTGGAGGTTCTGGTGGTGGGGGA
 TCTGGAGGCGGAGGATCTGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
 GGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTTGACAGCGACGCCG
 CGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGGA
 GACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCTGCGCGGCGCCTACA
 ACCAGAGCGAGGGCCGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACTGGCGC
 TTCTCCGCGGGTACCACCACTACGCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCT
 CTGGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAG
 CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGAGATACCTGGAGAACGGGAAGGA
 GACGCTGCAGCGCACGGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACC
 CTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGA
 CCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTTGCGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
 CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
 CCTCACCTGAGATGGGAGGCAGCTGCGGGTGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCA
 CCTGAAATCGAGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
 GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTG
 GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAGCAC
 GTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
 AGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCAGATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
 GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG
 CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
 ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTGCACAACCAC
 TACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATAGTGA

ФИГ. 29В

Лидерная последовательность IL2 человека — курсив

IL2 человека; H16A=GCA; F42A=GCA — жирный (GCA подчеркнутый)

линкер (G4S)₄ — подчеркнут одной чертой

A0201 человека; Y84A=**GCC**; A236C=TGC — подчеркнут двойной чертой (GCC и TGC — жирный)

линкер AAAGG подчеркнут — одной чертой

Fc IgG1 человека; L234F=**TTC**; L235E=**GAG**; P331S=**AGC**

N297=**AAC**; с AGG по **AGA** (все еще R) и с AGC по **TCC** (все еще S) — (жирный и подчеркнутый, TTC, GAG, AAC и AGC курсивом)

Стоп-кодона (TAGTGA)

ФИГ. 30 (SEQ ID NO:41)

1274:

MSRSVALAVLALLSLSGLEAYMLDLQPETTTGGGSGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCHFA
ENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLRNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEYLLLYTEFTPEK
DEYACRVNHVTLSQPKIVKWRDM

Лидерная последовательность β2M человека — курсив

E7(11–20) — жирный и подчеркнутый

линкер (G4S)₃ — подчеркнут одной чертой

β2M человека; R12C — подчеркнут двойной чертой (R12C жирный)

ФИГ. 31 (SEQ ID NO:42)

1274 без лидерного пептида

YMLDLQPETTYGGGSGGGGSGGGGSIQYMLDLQPETTTGGGSGGGGSGGGGSIQRTPEKIQVYSCH
FAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLRNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEYLLLYTEFTPEKDEY
ACRVNHVTLSQPKIVKWRDMRTPKIQVYSCHFAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLRNGERI
EVHSDLSFSKDWSEYLLLYTEFTPEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWRDM

E7(11–20) — жирный и подчеркнутый (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:77)

Линкер (G4S)₃ — подчеркнут одной чертой (GGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 207)

β2M человека; R12C — подчеркнут двойной чертой

ФИГ. 32 (SEQ ID NO:43)

1274 нуклеотидная последовательность, кодирующая 1274 с лидерным пептидом

ATGTCCTCGCTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCCTACATGCTCGA
TTTGCAGCCCCGAAACGACGGGTGGAGGTGTTCTGGAGGAGGCGGTTCCGGGCGGAGGTGGTAGTATC
CAGCGTACTCCAAAGATTCAAGTTTACTCATGCCATCCAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCTGAATT
GCTATGTGTCTGGGTTTCATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAAAA
AGTGGAGCATTCACTTGTCTTTCAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTATTATACTGAATTCACCCC
CACTGAAAAAGATGAGTATGCCTGCCGTGTGAACACGTGACTTTGTCACAGCCCAAGATAGTTAAGTG
GGATCGAGACATGTAGTGA

Лидерная последовательность β2M человека — курсив

E7(11–20) — жирный и подчеркнутый

линкер (G4S)₃ — подчеркнут одной чертой

β2M человека; R12C — подчеркнут двойной чертой (TGC жирный)

Стоп-кодоны TAGTGA

ФИГ. 33А (SEQ ID NO:44)

Последовательность Fc IgG1 человека ДТ:

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 33В (SEQ ID NO:45)

Fc IgG1 человека с мутацией: L234F/L235E/P331S (тройная мутация «ТМ»)

DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPSI EKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 33С (SEQ ID NO:46)

Fc IgG1 человека с мутацией: N297A

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 33D (SEQ ID NO:47)

Fc IgG1 человека с мутацией: L234A/L235A (LALA)

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

остаток пронумерован в соответствии с индексом ЕС (нумерация Kabat)

ФИГ. 34А (SEQ ID NO:48)

B2M R12C

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLL
YYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPQKIVKWDRDM

ФИГ. 34В (SEQ ID NO:49)

IL-2 (H16A; F42A)

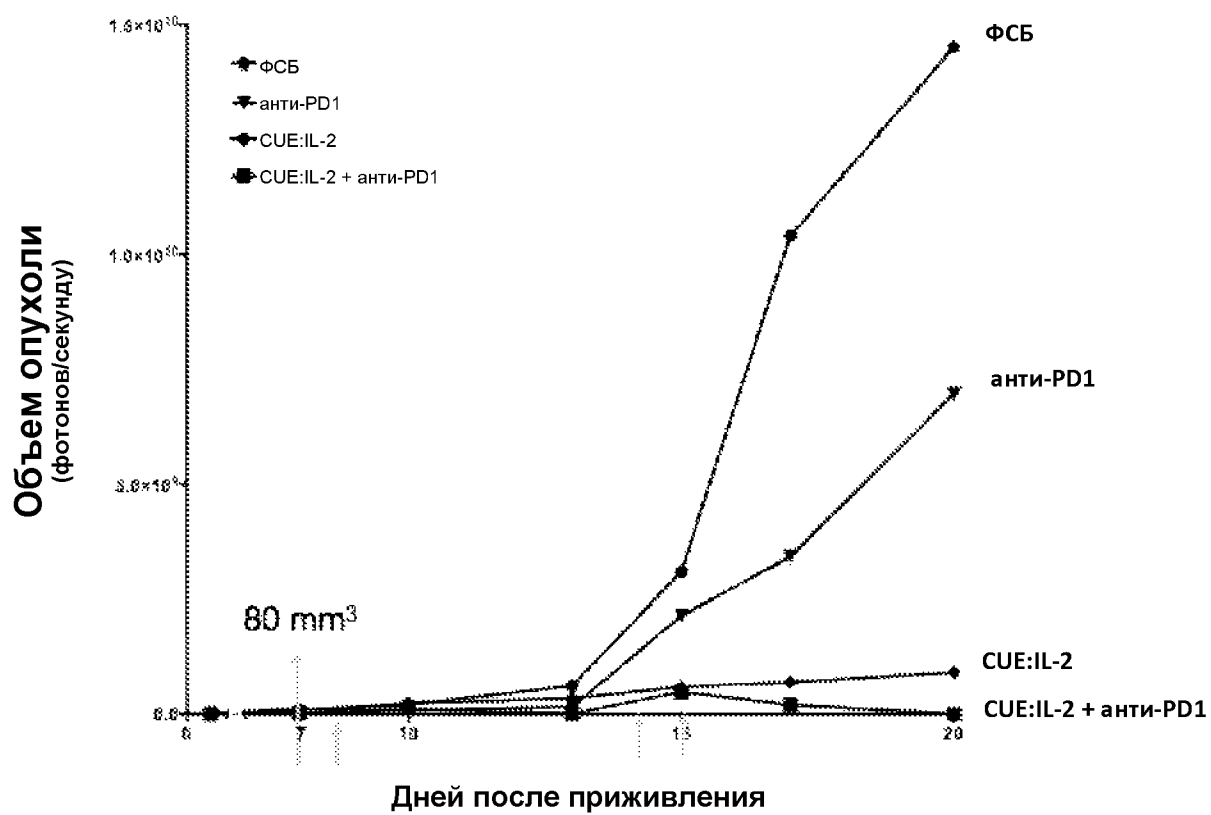
APTSSSTKNTQLQLEALLLDLQMI~~L~~NGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKP
LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS
TLT

ФИГ. 34С (SEQ ID NO:50)

Тяжелая цепь ГКГС класса I A0201 (Y84A; A236C)

GSHSMRYFFTSVSREGRGEPFRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR
KVKANSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS~~D~~WRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDL
RSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVS
DHEATLRWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWA~~A~~VVVPSGQEQRYTCH
VQHEGLPKPLTLRWE

ФИГ. 35



ФИГ. 36А

4-I-BBL

Homo sapiens

GenBank NP 003802

Цитоплазматический домен = 1–25

Трансмембранный домен= 26–48

Эктодомен = 49–254

домен гомологии TNF = 80–254, 81–254 или 80–246

```
1 MEYASDASLD PEAPWPPAPR ARACRVLEFWA LVAGLLLLLL LAAACAVELA CPWAVSGAPA
61 SPGSAASPRL REGPELSPDD PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEET KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLFPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIFAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 99)
```

ФИГ. 36B
K127

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYXEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE  (SEQ ID NO: 100)
```

ФИГ. 36C
K127

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYAEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE  (SEQ ID NO: 101))
```


ФИГ. 36D
Q227

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLFPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWXLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:102)
```

ФИГ. 36E
M91

```
81          PAGLLDLRQG XFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLFPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NG:103)
```

ФИГ. 36F
F92

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLFPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:104)
```

ФИГ. 36G
Q94

```
      81                PAGLLDLRQG MFAXLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA  RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO: 105)
```

ФИГ. 36H
L95

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQXVVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA  RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:106) )
```

ФИГ. 36I
V96

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLXAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA  RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIFAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:107)
```

ФИГ. 36J
Q98

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:108)
```

ФИГ. 36K
N99

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQXV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:109)
```

ФИГ. 36L
V100

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNX LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:110)
```

ФИГ. 36М

L101

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV XLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:111)
```

ФИГ. 36N

L102

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LXIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 112)
```

ФИГ. 36O

II03

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLXDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:113)
```

ФИГ. 36P
D104

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIXGELSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO: 114)
```

ФИГ. 36Q
G105

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDXPELSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO: 115)
```

ФИГ. 36R
P106

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGELSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO:116)
```

ФИГ. 36S
L107

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPXSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVELHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 117)
```

ФИГ. 36T
S108

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLXWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVELHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:118)
```

ФИГ. 36U
W109

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSXY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVELHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 119)
```

Фиг. 36V
Y110

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWX SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 120)
```

Фиг. 36W
S111

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY XDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 121)
```

Фиг. 36X
D112

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SXPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 122)
```

ФИГ. 36Y

P113

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDXGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:123)
```

ФИГ. 36Z

G114

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPXLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:124)
```

ФИГ. 36AA

L115

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGXAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS (SEQ ID NO: 125)
```

ФИГ. 36BB

G117

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAXVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:126)
```


ФИГ. 36CC

V118

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGXSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:127)
```

ФИГ. 36DD

S119

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVXL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:128)
```

ФИГ. 36EE

L120

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSX
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:129)
```

ФИГ. 36FF

T121

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  XGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:130)
```

ФИГ. 36GG

G122

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TXGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:131)
```

ФИГ. 36HH

G123

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGXLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:132)
```

ФИГ. 36II

L124

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGXSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 133)
```

ФИГ. 36JJ
S125

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLXYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 134)
```

ФИГ. 36KK
Y126

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSXKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 135)
```

ФИГ. 36LL
E128

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKXEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 136)
```

ФИГ. 36MM
D129

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEXT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 137)
```

ФИГ. 36NN

T130

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDX KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 138)
```

ФИГ. 36OO

K131

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT XELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:139)
```

ФИГ. 36PP

E132

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KXELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:140)
```

ФИГ. 36QQ

F144

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVXFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 141)
```

ФИГ. 36RR
FI45

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFXQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:142)
```

ФИГ. 36SS
Q146

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFXLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:143)
```

ФИГ. 36TT
L147

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQXELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:144)
```

ФИГ. 36UU
EI48

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLXLR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 145)
```

ФИГ. 36VV
L149

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLEXR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 146)
```

ФИГ. 36WW
R150

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELX RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:147)
```

ФИГ. 36XX
R151

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 148)
```

ФИГ. 36YY
V152

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RXVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:149)
```

ФИГ. 36ZZ

V153

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVXAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TFEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO: 150)
```

ФИГ. 36AAA

G155

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAXEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TFEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO: 151)
```

ФИГ. 36BBB

E156

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGXGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TFEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO: 152)
```

ФИГ. 36CCC

G157

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEXSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 153)
```

ФИГ. 36DDD

S158

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGXSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:154)
```

ФИГ. 36EEE

D184

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVXLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:155)
```


ФИГ. 36FFF

L185

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELE RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDXPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 156)
```

ФИГ. 36GGG

P186

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDEXPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 157)
```

ФИГ. 36HHH

P187

```
      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDEPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:158)
```

ФИГ. 36III

S189

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLFPAXS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 159)

```

ФИГ. 36JJJ

S190

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLFPASX EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 160)

```

ФИГ. 36KKK

E191

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLFPASS XARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:161) )

```

ФИГ. 36LLL

R193

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLFPASS EAXNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:162)

```

ФИГ. 36MMM

N194

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNXSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 163)
```

ФИГ. 36NNN

S195

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNXAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 164)
```

ФИГ. 36OOO

F197

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAXGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 165)
```

ФИГ. 36PPP

Q210

```
81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGX RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 166)
```

ФИГ. 36QQQ

R211

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEFQ GRLLHLSAGQ XLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO:167)

```

ФИГ. 36RRR

L212

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEFQ GRLLHLSAGQ RXGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO:168)

```

ФИГ. 36SSS

G213

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGEFQ GRLLHLSAGQ RLXVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO:169)

```

ФИГ. 36TTT

V214

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ  GRLLHLSAGQ  RLGVXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:170)
```

ФИГ. 36UUU

H215

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ  GRLLHLSAGQ  RLGVXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PF (SEQ ID NO:171)
```

ФИГ. 36VVV

L216

```
      81          PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ  GRLLHLSAGQ  RLGVHXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS  PRSE (SEQ ID NO:172)
```

ФИГ. 36WWW

H217

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ  GRLLHLSAGQ  RLGVHLXTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TFEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:173)

```

ФИГ. 36XXX

T218

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ  GRLLHLSAGQ  RLGVHLEXEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TFEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO:174)

```

ФИГ. 36YYY

E219

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT  KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS  EARNSAFGFQ  GRLLHLSAGQ  RLGVHLHTXA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
241  TFEIPAGLPS  PRSE  (SEQ ID NO: 175)

```

ФИГ. 36ZZZ

R221

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA XARHAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:176)
  
```

ФИГ. 36AAAA

R223

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RAXHAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS (SEQ ID NO: 177)
  
```

ФИГ. 36BBBB

H224

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
    121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
    181 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARXAWQLTQ GATVLGLFRV
    241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:178)
  
```

ФИГ. 36CCCC

W226

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAXQLTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:179)

```

ФИГ. 36DDDD

L228

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQXTQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:180)

```

ФИГ. 36EEEE

T229

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLXQ GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:181)

```


ФИГ. 36FFFF

Q230

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTX GATVLGLFRV
241  TPEIPAGLFS PRSE (SEQ ID NO 182)

```

ФИГ. 36GGGG

G231

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ XATVLGLFRV
241  TPEIPAGLFS PRSE (SEQ ID NO: 183)

```

ФИГ. 36HHHH

T233

```

      81                PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDFGLAGVSL
121  TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181  LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GAXVLGLFRV
241  TPEIPAGLFS PRSE (SEQ ID NO: 184)

```

V234

```

81          FACLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGFLSWY SDPGLAGVSL
121 TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
181 LTVDLPPASS EARNSAFGEQ GRLLHLISAGQ RLGVHLBTEA RARHAWQLTQ GATXLGLFRV
241 TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO: 185)

```

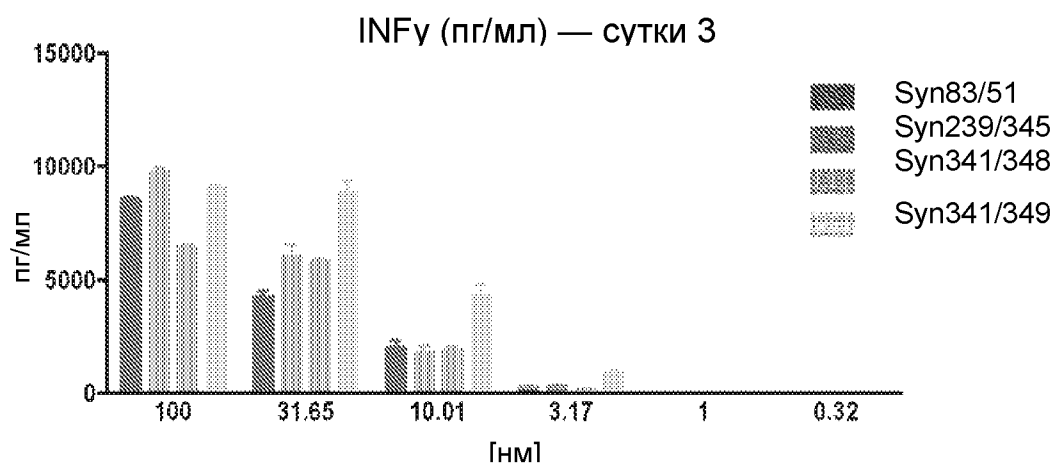
ФИГ. 37

Homo sapiens

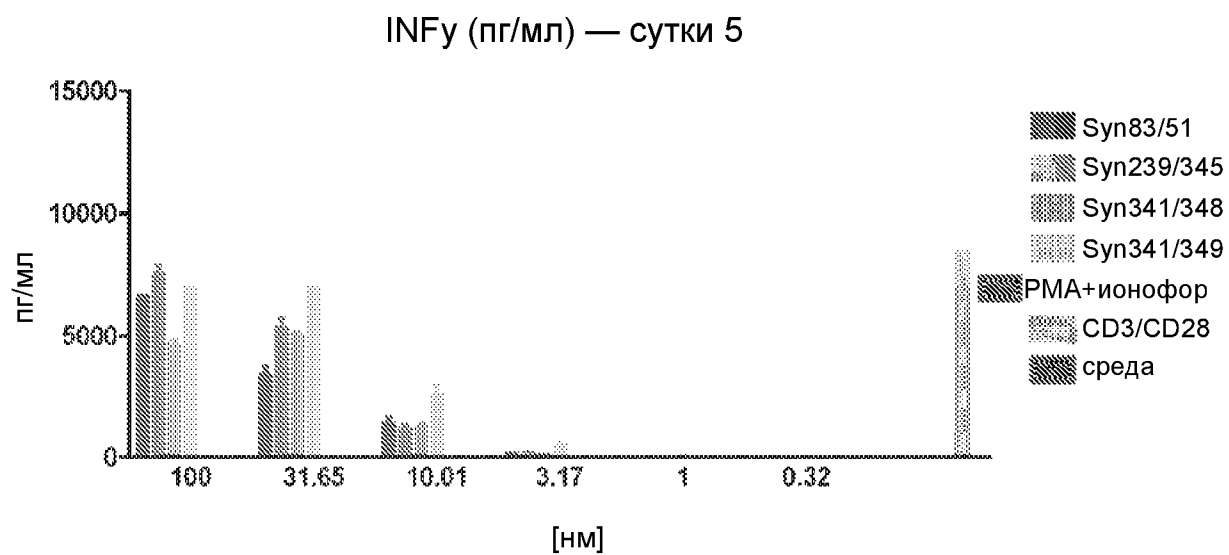
4-1BB

```
1  mgnscyniva tlllvlnfer urslqdpesn cpagtfcdnn rnqicspcpp usfssaggqr  
61  todicrqoky vfrtrkeess tsoaecdctp gfhclgagcs mceqdcckggq eltkkgyckdc  
121  cfgtfndqkr gicrpwtncs ldqksvlvng tkerdvvcgp spadlspgas svtpapapare  
181  pghspqiisf flaltstall fliffllrlf svvirgrkkl lyifkqpfmr pvqttqeedg  
241  cscrflpeeee qgcsl      (SEQ ID NO:186)
```

ФИГ. 38А

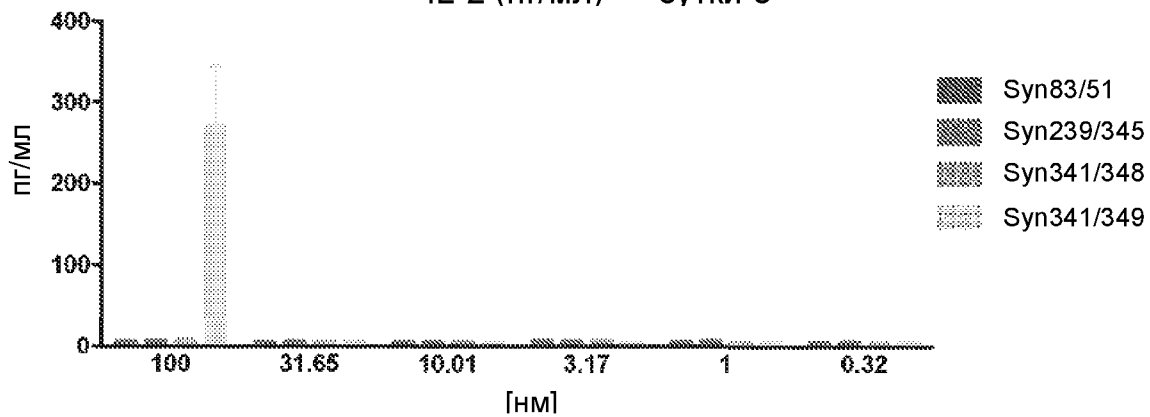


ФИГ. 38В



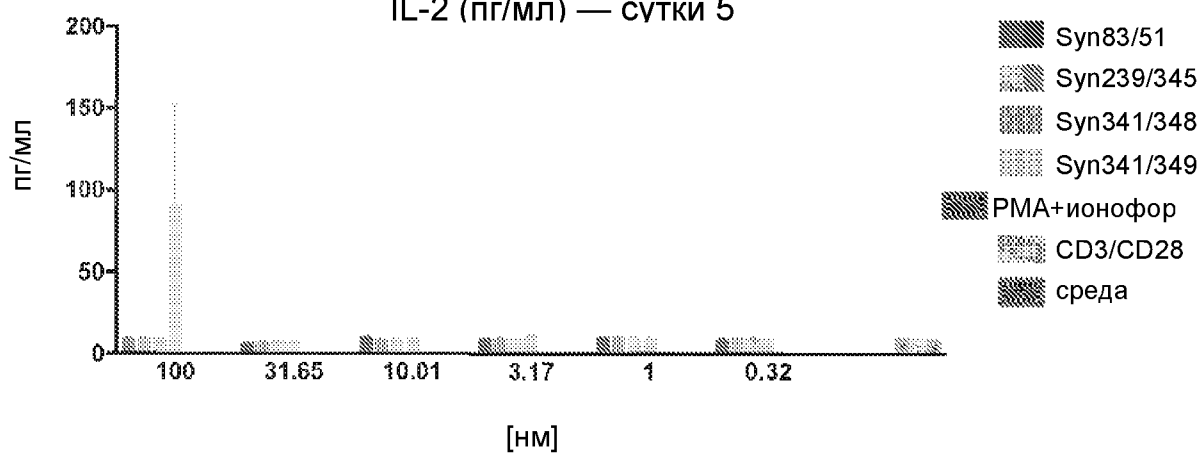
ФИГ. 39А

IL-2 (пг/мл) — сутки 3



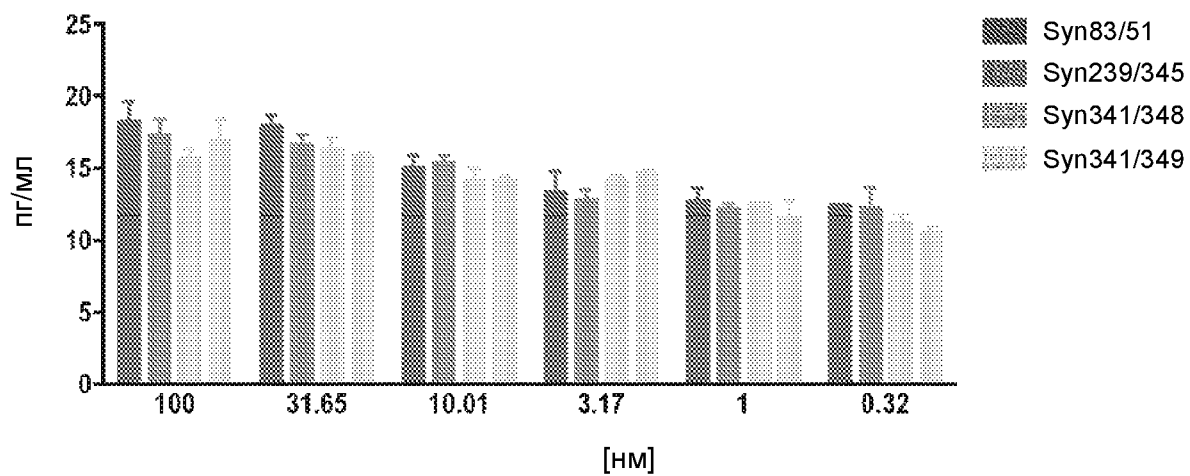
ФИГ. 39В

IL-2 (пг/мл) — сутки 5



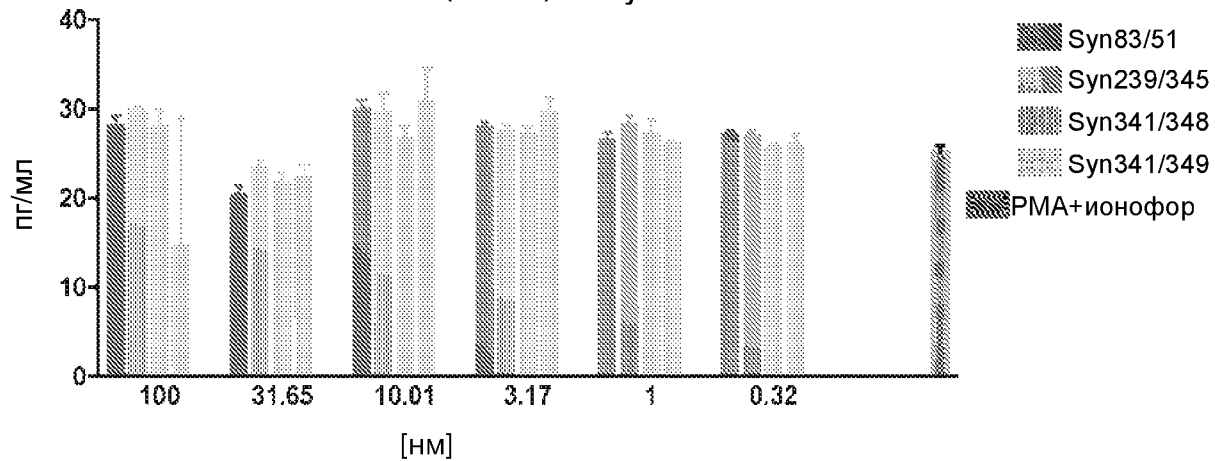
ФИГ. 40А

IL-6 (пг/мл) — сутки 3

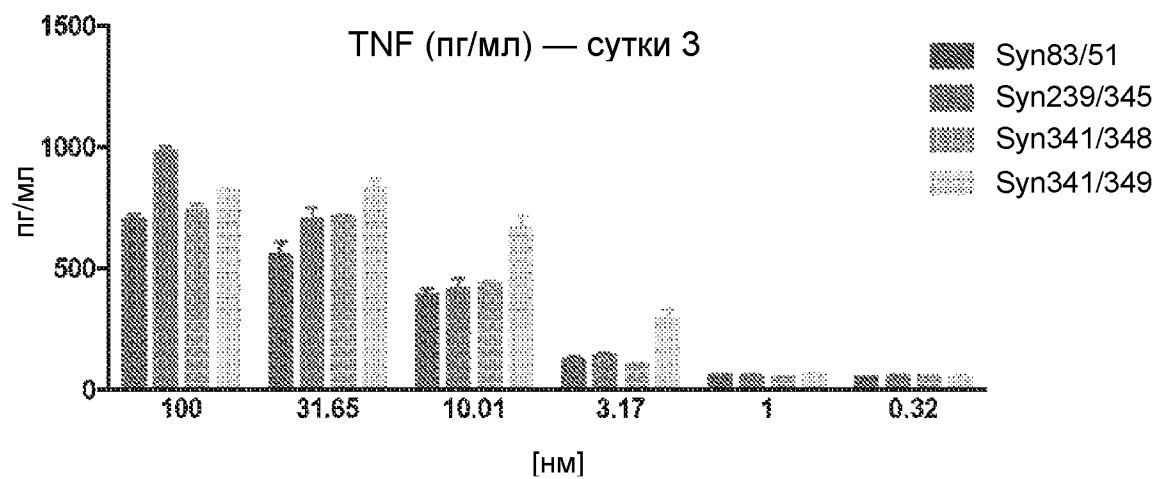


ФИГ. 40В

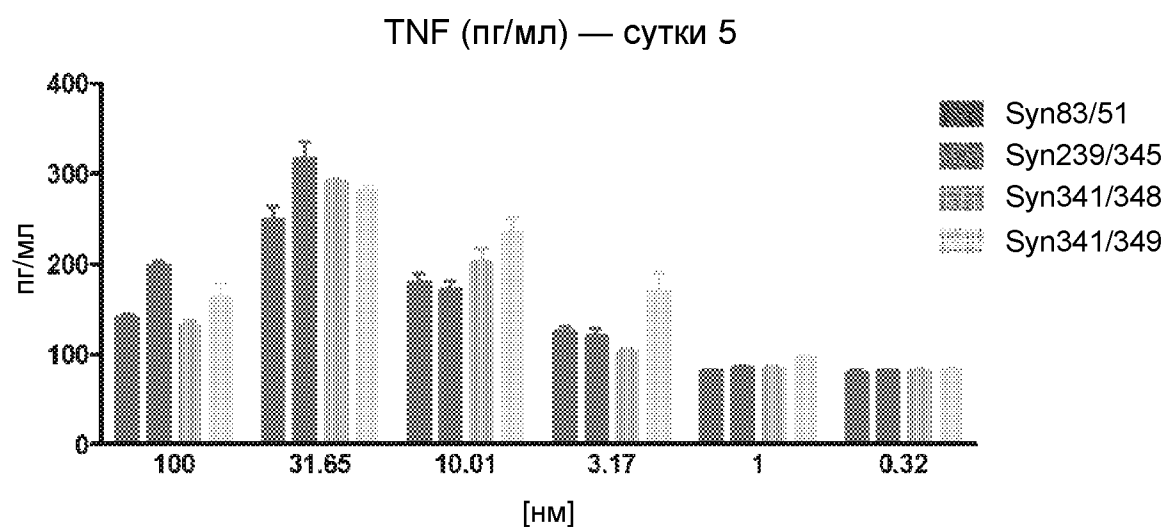
IL-6 (пг/мл) — сутки 5



ФИГ. 41А

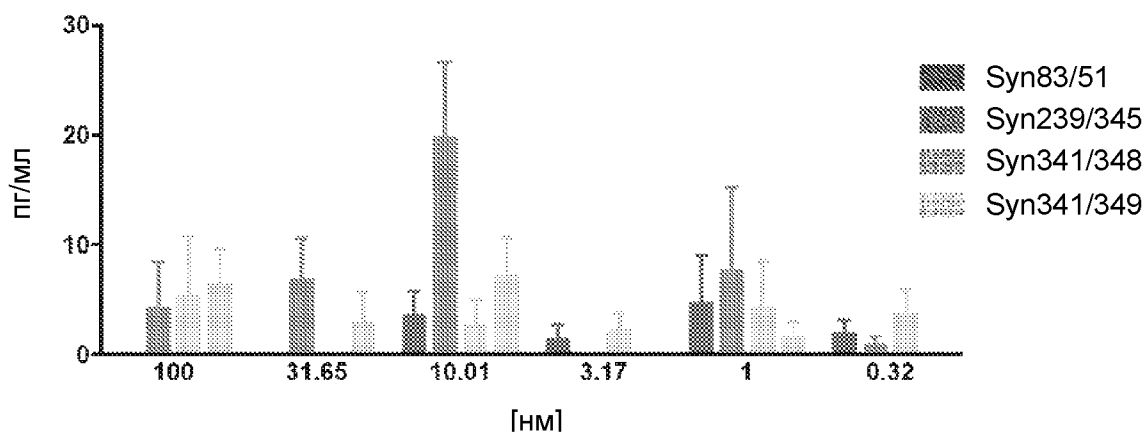


ФИГ. 41В



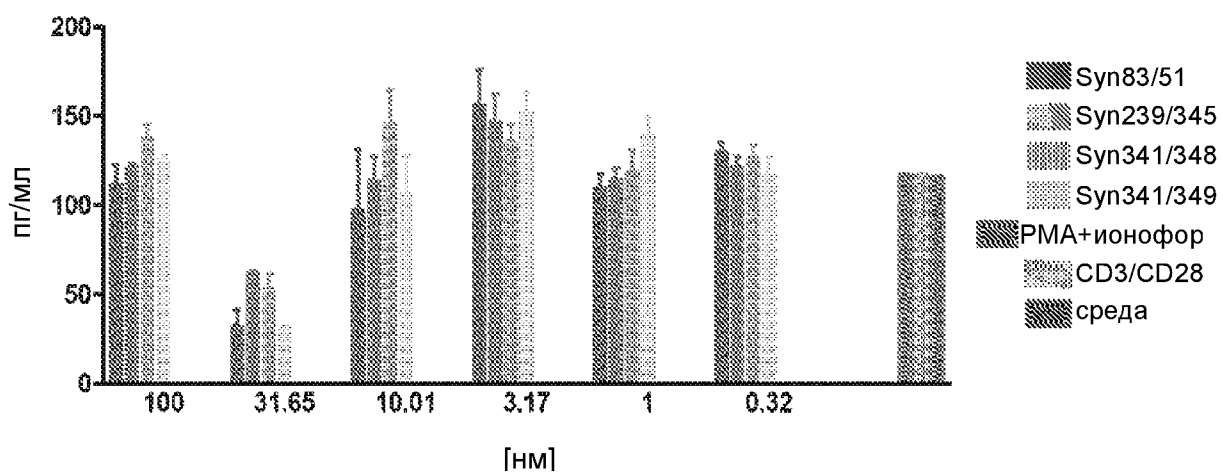
ФИГ. 42А

IL-10 (пг/мл) — сутки 3, линейное

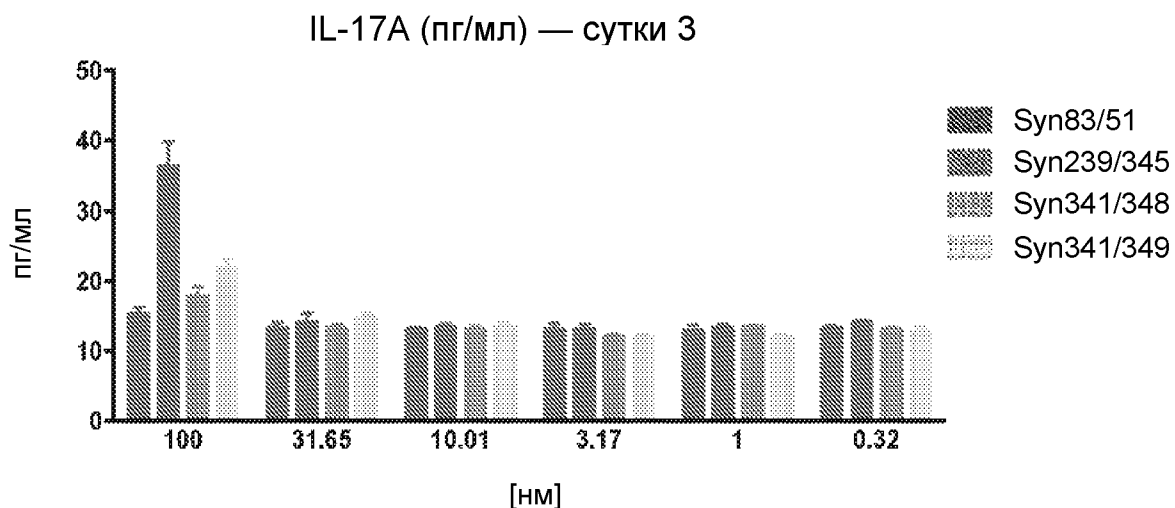


ФИГ. 42В

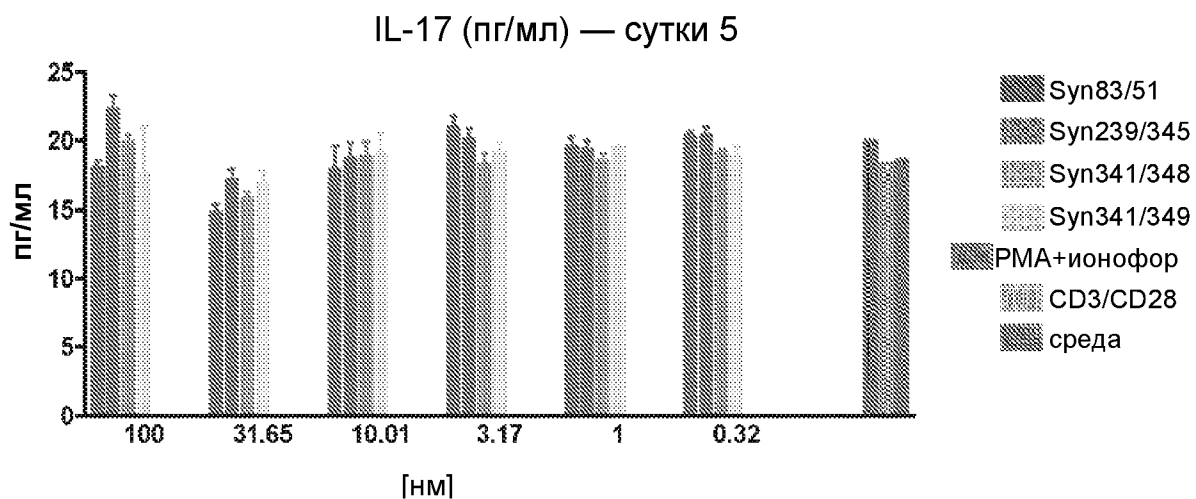
IL-10 (пг/мл) — сутки 5, линейное



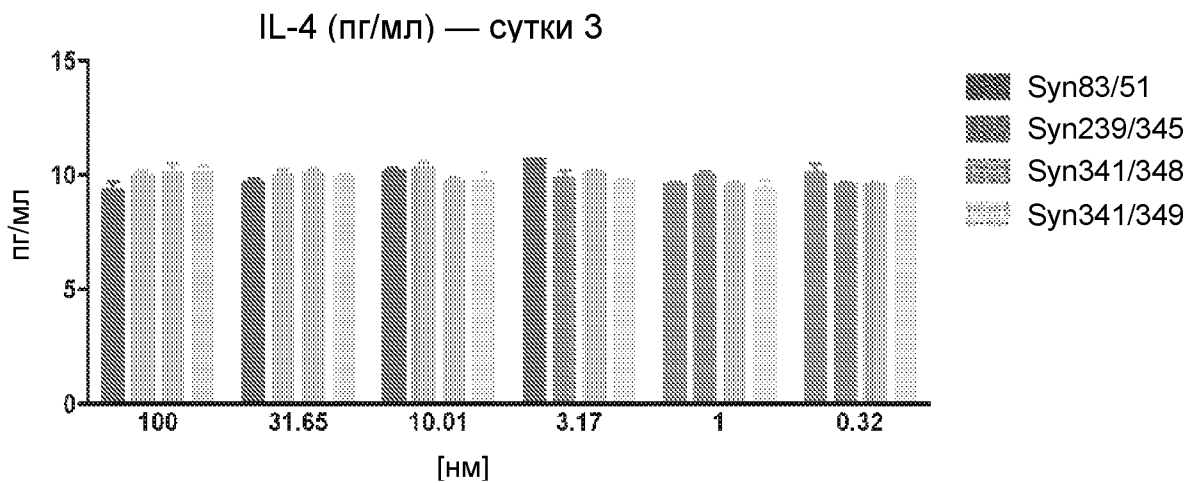
ФИГ. 43А



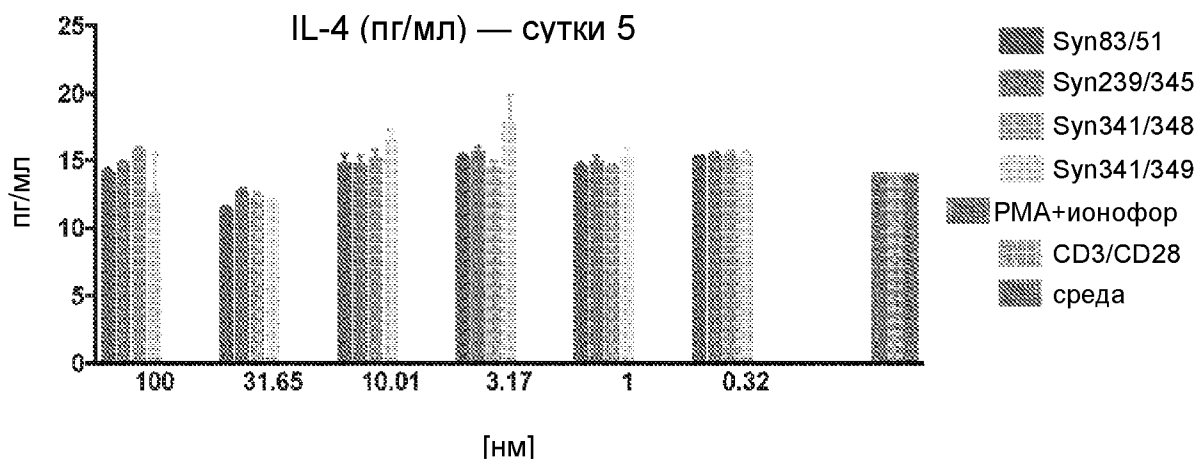
ФИГ. 43В



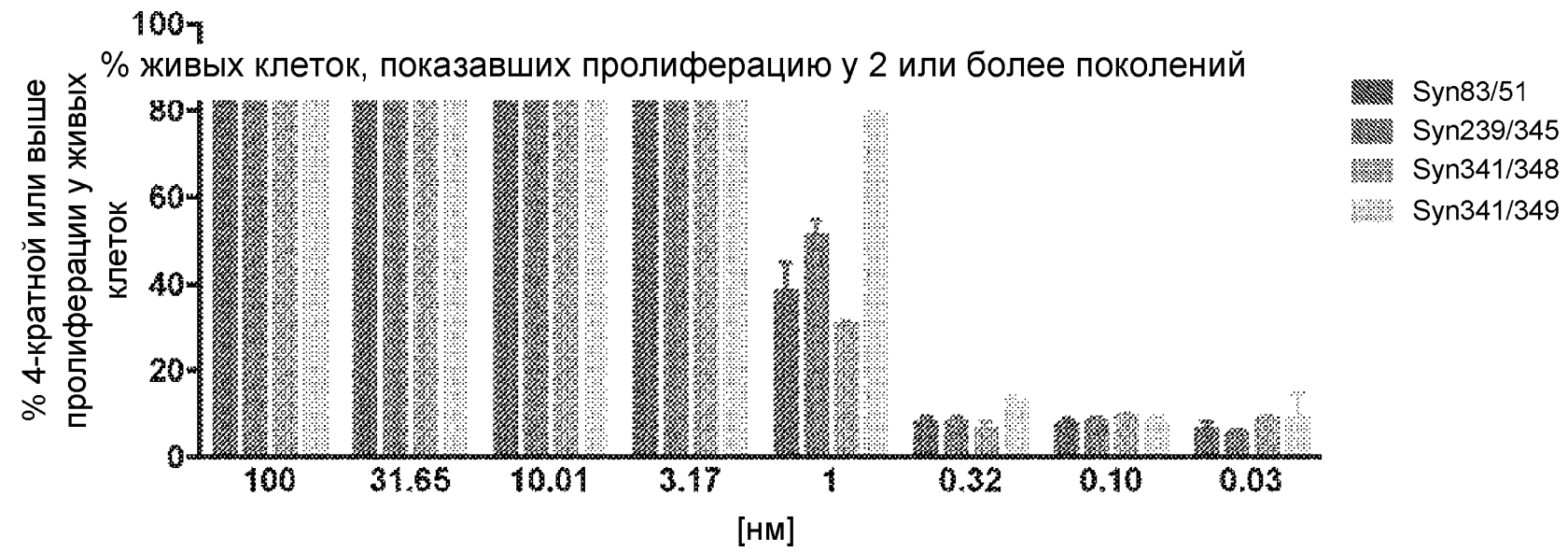
ФИГ. 44А



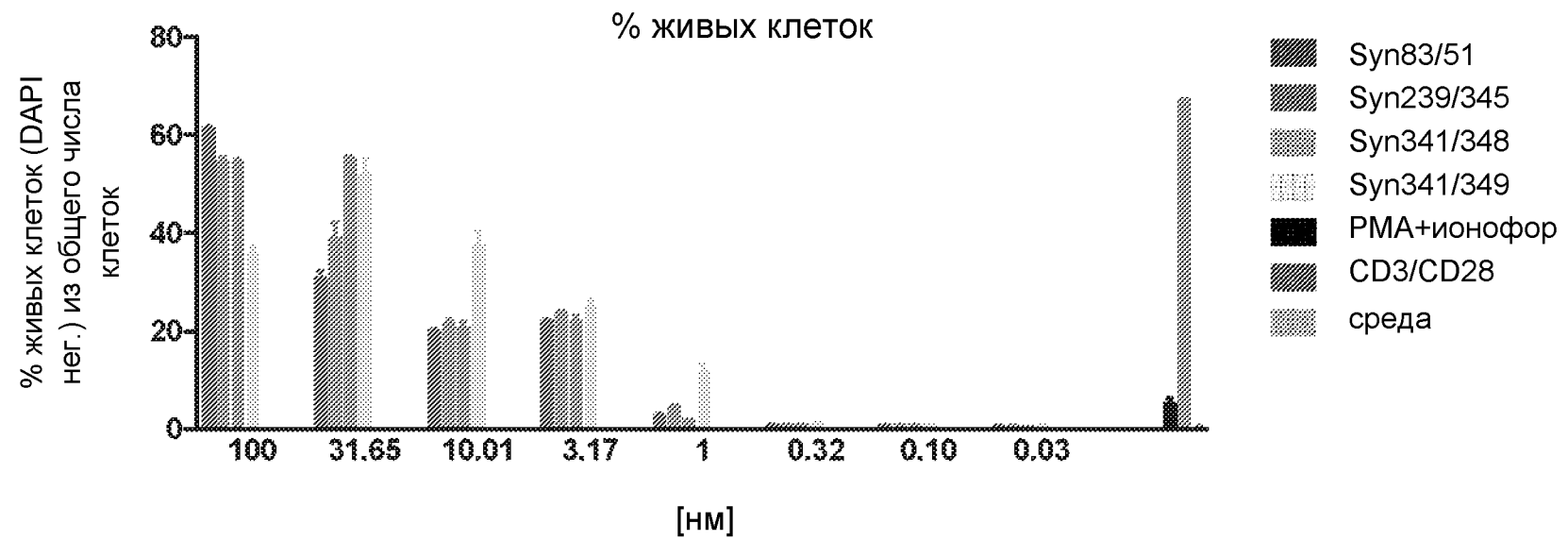
ФИГ. 44В



ФИГ. 45



ФИГ. 46



ФИГ. 47

Вариант 4-1BBL	Уровень экспрессии мг/л	Уровень экспрессии мг/л	Кратность относительно дикого типа
M91A	105,9	115,9	14
F92A	48,9	41,6	5,8
Q94A	13,8	23,1	2,3
L95A	81,8	63,3	9,2
V96A	16,2	24,4	2,6
Q98A	43,0	43,0	5,5
N99A	35,3	53,3	5,6
V100A	37,6	42,6	5,1
L101A	137,8	203,2	21,7
L102A	148,0	184,4	21,2
I103A	48,0	68,0	7,4
D104A	70,5	65,1	3,9
G105A	23,8	37,6	2,6
P106A	81,2	66,0	9,4
L107A	13,8	13,4	1,7
S108A	66,2	72,1	8,8
W109A	15,6	30,8	2,9
Y110A	107,0	110,1	13,8
S111A	104,0	109,0	13,6
D112A	28,0	32,1	3,8
P113A	60,1	60,4	7,7
G114A	94,8	81,7	3,9
L115A	23,0	26,4	3,1
G117A	4,4	12,5	
V118A	4,2	5,3	
S119A	4,6	5,6	
L120A	4,6	4,6	
T121A	4,9	6,3	
G122A	9,8	9,5	
G123A	2,5	10,4	
L124A	3,1	8,5	
S125A	8,9	8,3	
Y126A	2,3	0,6	
E128A	6,1	14,6	
D129A	2,2	0,0	

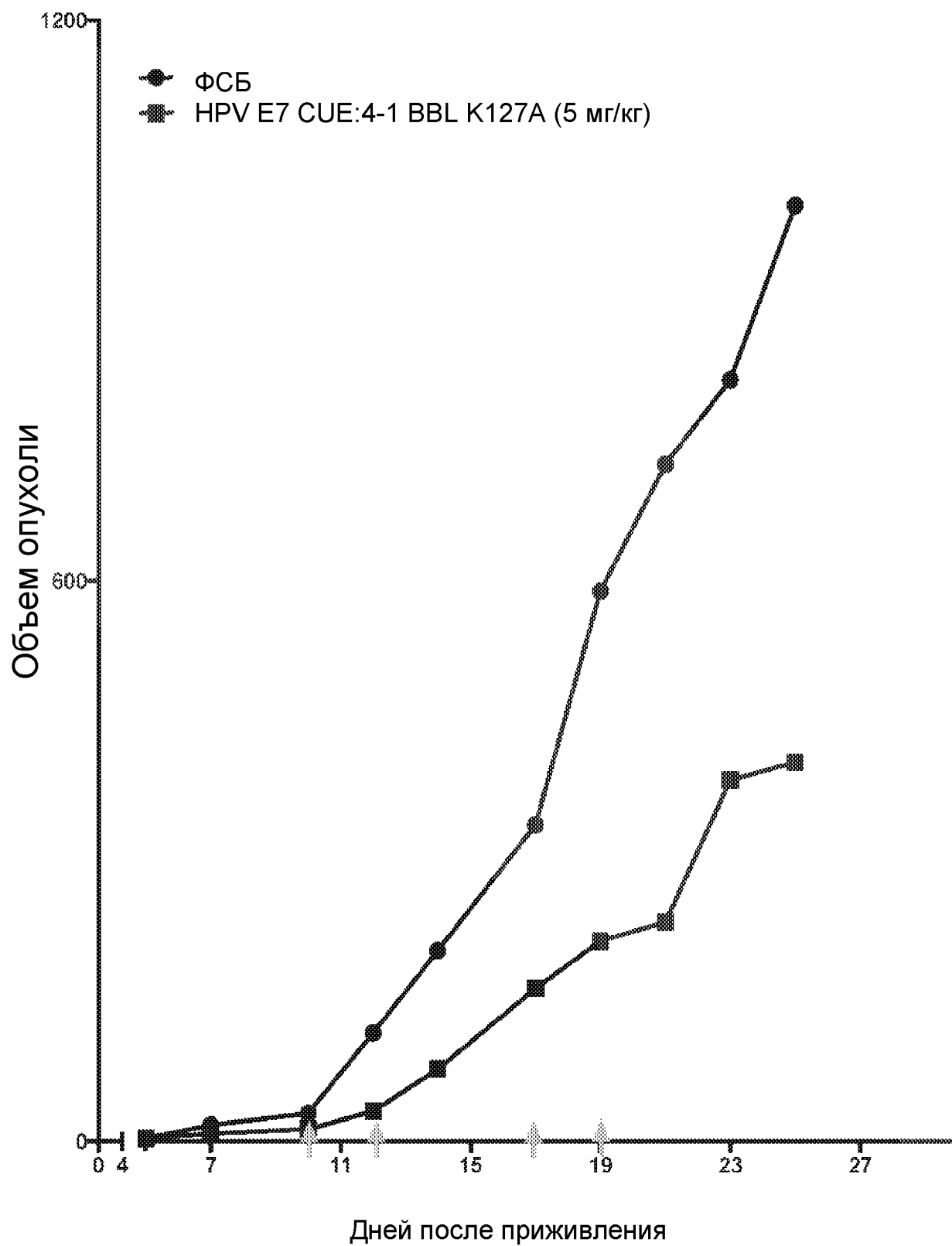
ФИГ. 47 (продолж.)

Вариант 4-1BBL	Уровень экспрессии мг/л	Уровень экспрессии мг/л	Кратность относительно дикого типа
T130A	1,9	2,6	
K131A	7,0	15,3	
E132A	2,3	6,8	
F144A	1,5	0,0	
F145A	8,2	6,3	
Q146A	5,7	10,5	
L147A	10,3	16,8	
E148A	5,7	4,4	
L149A	9,9	12,9	
R150A	10,3	4,7	
R151A	1,8	0,0	
V152A	2,9	6,7	
V153A	3,7	7,9	
G155A	6,9	13,1	
E156A	4,3	4,0	
G157A	12,3	18,7	
S158A	6,7	6,3	
D184A	3,6	5,0	
L185A	2,2	0,0	
P186A	4,3	2,2	
P187A	2,9	0,0	
S189A	3,8	6,1	
S190A	2,4	3,1	
E191A	1,8	4,1	
R193A	6,6	7,5	
N194A	4,3	0,1	
S195A	3,2	1,6	
F197A	3,1	6,5	
Q210A	5,1	3,9	
R211A	1,6	3,5	
L212A	2,0	9,8	
G213A	5,0	2,9	
V214A	2,7	7,5	
H215A	3,3	2,4	
L216A	3,4	10,2	

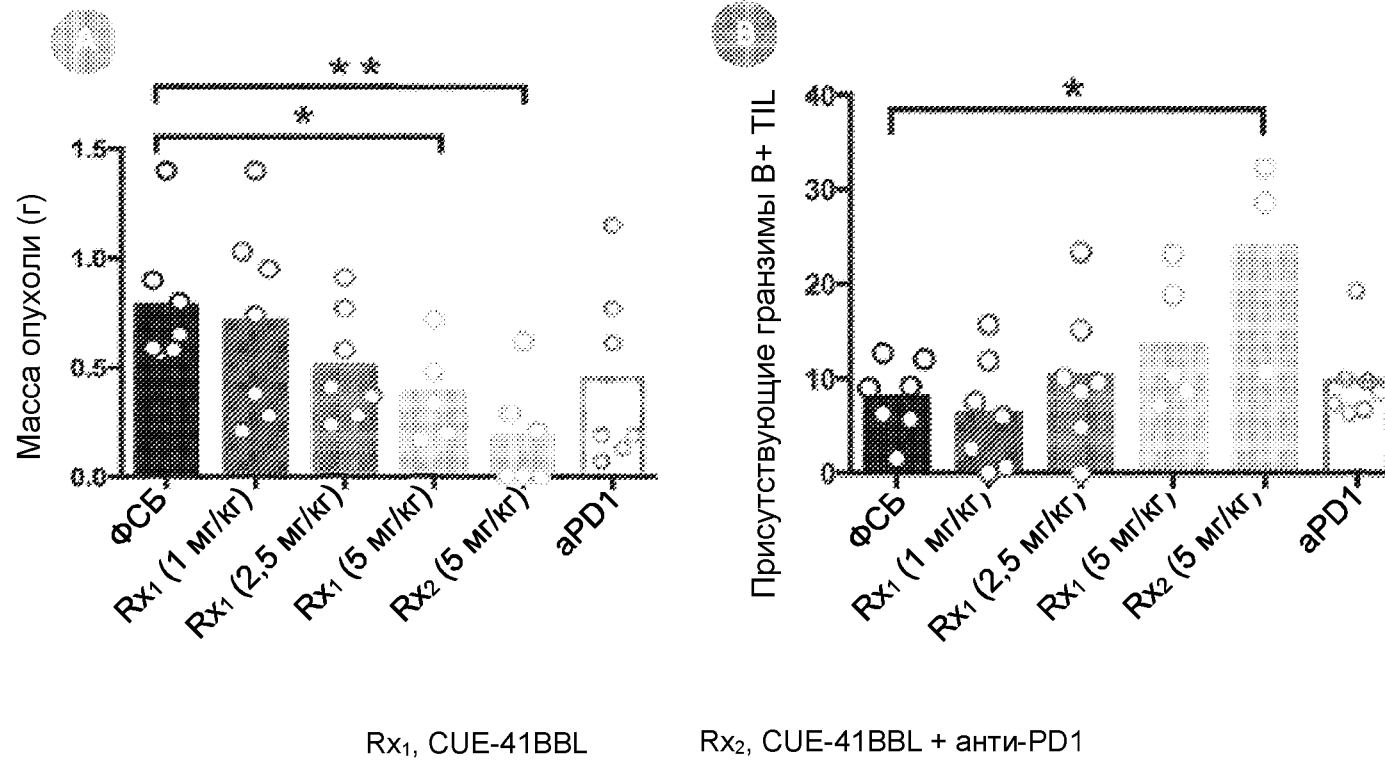
ФИГ. 47 (продолж.)

Вариант 4-1BBL	Уровень экспрессии мг/л	Уровень экспрессии мг/л	Кратность относительно дикого типа
H217A	8,6	3,2	
T218A	6,6	9,9	
E219A	2,8	5,2	
R221A	3,3	8,7	
R223A	6,2	9,7	
H224A	4,1	6,0	
W226A	1,9	0,0	
L228A	3,1	0,0	
T229A	6,0	7,8	
Q230A	2,7	4,7	
G231A	1,9	2,4	
T233A	1,8	0,0	
V234A	1,9	0,0	
ДТ	3,8	11,9	

ФИГ. 48



ФИГ. 49



ФИГ. 50A

PD-L1

Mus musculus NP_068693

Аминокислоты 19–290

```
1  mrifagslift acchllraft itapkdlyvv eygsnvtmec rfpvereldl lalvvyweke
61  deqviqfvag eedlkpqhsn frgraslpkd qlkgnaalq itdvklqdag vyccilsygg
121 adykritlkv napyrkinqr isvdpatseh elicqaegyp eaeviwtnsd hgpvsgkrsv
181 ttsrtegmll nvtsslrva tandvfycf wrsqpgqnht aeliipelpa thppqnrthw
241 vllgsillfl ivvstvlfl rkqvrmdve kcgvedtssk nrndtqfeet
```

(SEQ ID NO: 187)

ФИГ. 50B

PD-L1

Homo sapiens

NP_054852

Аминокислоты 19–290

```
1  mrifavfifm tywhllnaft vtvpkdlyvv eygsnatiec kfpvekqldl aalivyweme
61  dknliqfvhg eedlkvqhss yrqrarllkd qlslgnaalq itdvklqdag vyrmlisygg
121 adykritvkv napynkinqr ilvvdptse heltoqaegy pkaeviwts dhqvlsgktt
181 ttnskreekl fnvtstlrin tttneifyct frildpeenh taelvipelp lahppnerth
241 lvilgailic lgvaltffir lrkgrmmdvk kcgigdtnsk kgsdthleet
```

(SEQ ID NO: 188)

ФИГ. 51

Эктодомен CD80 (B7-1)

vinvtk evkevatlsc ghnvsveela

qtriywqkek kavltmmsgd mniwpeyknr tifditnls ivilalrpsd egtyecvvik

yekdafkreh laevtlsvka dfptpsisdf eiptsnirri icstsggfpe phlawlence

elnainttvs qdpetelyav sskldfnmtt nhsfmoliky ghlrvnqtn wnttkqehfp

dn (SEQ ID NO:189)'

ФИГ. 52

Homo sapiens

ICOS-L

GenBank NP_056074

Аминокислоты 19-302

```
1 mrlqspgllf llfsslradt qekevramvg sdvelscacp egsrfdlndv yvywqtsesk
61 tvvtyhipqn sslenvdsry rnralspag mlrqdfsrlr fnvtpqdegk fhclvlsqsl
121 gfgqevlsvev tlhvaanfsv pvvsaphsps qdeltftcts ingyprpnvy winktdnsll
181 dqalqndtvf lnmrglydvv svlriartps vnigccienv llqgnltvgs qtgndigerd
241 kitenpvstg eknaatwsil avicllvvva vaigwvcrdr clghsyagaw avspeteltg
301 hv
```

(SEQ ID NO: 190)

ФИГ. 53

Homo sapiens

GenBank NP 003317

OX4L

```
1 mervqpleen vgnaarprfe rnklllvasv iqglqlilcf tyiclhfsal qvshrypriq
61 sikvqfteyk kekqfildsq kedeimkvqn nsviinodgf ylislkgyfs qevnislhyq
121 kdeepifqik kvrsvnslmv asltykdkvy invttcntsl ddfhvnggel ilihqnpgef
181 cvl
```

(SEQ ID NO: 191)

ФИГ. 54

Homo sapiens

GenBank NP_079515

PD-L2

Аминокислоты 20-273

```
1 mifllllmlsl elqihqiaal ftvtvpkely iiehgsnvtl ecnfdtgshv nlgaitaslg
61 kvendtsphr eratilleeq plgkasfhip qvqvrdeggy qciidygvaw dykyltlkvk
121 asyrkinthi lkvpetdave ltcgatgyp l aevswprvsv pantshsrtp eglyqvtsvl
181 rikpppgrnf scvfwnthvr eitlasidlg sqmeprrthpt wlihihipfc ilafifiatv
241 ialrkqlcql lysskdttkr pvtttkrevn sai
```

(SEQ ID NO: 192)

ФИГ. 55

Homo sapiens

GenBank NP_787058

CD86 (B7-2)

Аминокислоты 31-329

```
1 mdpqctmgls nilfvmafll sgaaplkia yfoetadipc qfensqngsl selvvfwqda
61 enlvinevyl gkekfdsvhs kymgatsfda dswtlrlhnl qikdkglygc ilhhkkptgm
121 irihqmsel svlanfsqpe ivpianiten vyinltessi hgypepkms vllrtknsti
181 eydgimqksq dnvteydv sislsvsfpdv tanmtifcil etdktrllss pfsieledpq
241 pppdhipwat avlpaviicv mvfclliwkw kkkkrprnsy kogntuere eseqtkkrek
301 ihipersdea qrvfksskts sodksdtcf
```

(SEQ ID NO: 193)

ФИГ. 56

Лиганд Fas (FasL) *Homo sapiens*

GenBank NP_000630

Аминокислоты 1-281

```
1  mqpffnyyp qiywvdsas spwappgtvl pcptsvprp gqrrpppppp ppplpppppp
61  ppplppplpp lkkrgnhtg lclivmffmv lvalvqlqlg mqlfblqke laelrestsq
121 mhtasslekq ighpspppek kelrkvahlt gksnsrsmpl ewedtygivl lsgvkykkqg
181 lvinetglyf vyskvyfrqg scnnlplshk vymrnskypq divmneqkmm sycttgqawa
241 rssylgavfn ltsadhlyvn vseislvnfe esqtffglyk 1
```

(SEQ ID NO:194)