(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202091326 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.10.26

(22) Дата подачи заявки
2018.12.20

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

(54) ВЫСВОБОЖДАЮЩИЕ СЕГМЕНТЫ И СВЯЗЫВАЮЩИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ИХ

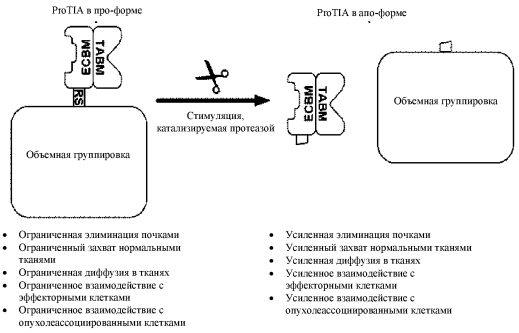
(31) **62/609,296; 62/780,719**
(32) **2017.12.21; 2018.12.17**
(33) **US**
(86) **PCT/US2018/066939**
(87) **WO 2019/126576 2019.06.27**

(71) Заявитель:
АМЬЮНИКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ян Фань, Шелленбергер Фолькер, Подуст Владимир, Сим Би-Чэн, Тайер Дезире, Бибер Джон (US)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Данное изобретение относится к активируемым композициям рекомбинантного полипептида, содержащим расщепляемый высвобождающий сегмент. В некоторых случаях активируемые композиции рекомбинантного полипептида включают XTEN, присоединенный к связывающим группировкам расщепляемыми высвобождаемыми сегментами, при этом связывающие группировки после отщепления способны соединять вместе эффекторные Т-клетки с целевыми опухолевыми или раковыми клетками и опосредовать цитолиз опухолевых клеток или раковых клеток. В изобретении также предложены композиции и способы получения и применения расщепляемых активируемых рекомбинантных композиций.



202091326 A1

202091326 A1

ВЫСВОБОЖДАЮЩИЕ СЕГМЕНТЫ И СВЯЗЫВАЮЩИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ИХ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] В данной заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент US 62/609296, поданной 21 декабря 2017, и предварительной заявки на патент US 62/780719, поданной 17 декабря 2018, содержание которых включено во всей полноте путем ссылки.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Основной задачей противоопухолевой терапии является специфическое разрушение опухолевых клеток, при этом по возможности не затрагивающее здоровые клетки и ткани. Подход, недавно вызвавший значительный интерес, заключается в индуцировании иммунного ответа против опухоли, при котором иммунные эффекторные клетки, такие как естественные киллерные клетки (NK) или цитотоксические Т лимфоциты (CTL) побуждают атаковать и разрушать опухолевые клетки.

[0003] Несмотря на успешное применение интактных моноклональных антител (MAb), обладающих аффинностью к опухолеассоциированному антигену, в области противоопухолевой терапии, их применение ограничивают большой размер интактных MAb, приводящий к плохому биораспределению, а также их длительное нахождение в крови. Кроме того, вследствие некроза опухоли и негомогенного распределения антигена интактные MAb зачастую не могут достигнуть центральных частей опухоли. Для преодоления этого применение фрагментов антител меньшего размера может привести к быстрой локализации в опухоли и более глубокому проникновению в опухоль, а также быстрому удалению из кровотока. Для этой цели одноцепочечные фрагменты (scFv), производные MAb обеспечивают лучшее биораспределение по сравнению с интактными MAb и могут более эффективно нацеливаться на опухолевые клетки. Несмотря на преимущества scFv полномасштабное клиническое применение моноспецифических scFv в химиотерапии опухолей затруднено для мишеней, обычно экспрессируемых как пораженными, так и здоровыми тканями. Для преодоления этого и других недостатков разработали другой подход, заключающийся в создании специальных биспецифических антител, которые будут направлять иммунные эффекторные клетки на уничтожение раковых клеток. Преимуществом биспецифических антител является сочетание различных связывающих детерминант, происходящих из двух моноклональных антител, в одной

молекуле, обеспечивая им широкий спектр применения, который невозможен для моноспецифических антител. В основе данного подхода лежит связывание одного плеча биспецифического антитела с опухолеассоциированным антигеном или маркером, тогда как другое плечо при связывании с маркером эффекторной клетки (например, молекулы CD3 на Т-клетках), запускает их цитотоксическую активность за счет высвобождения эффекторных молекул, таких как TNF-альфа, IFN-гамма, интерлейкины 2, 4 и 10, перфорин и гранзимы. Благодаря успехам в инженерии антител был создан ряд форматов биспецифических антител и композиций, в том числе BiTEs® (от англ. Bi-specific T-cell Engagers), такие как блинатумомаб, чтобы перенаправлять эффекторные клетки на опухолевые мишени. BiTEs действуют, рекрутируя и активируя поликлональные популяции Т-клеток в опухолевых очагах, при этом не нуждаясь в ко-стимуляции или стандартном распознавании МНС. Однако, при этом остается две проблемы, поскольку некоторые пациенты испытывают серьезные побочные эффекты, обозначаемые «цитокиновым штормом» или «синдромом высвобождения цитокинов» (Lee DW et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. Blood. 2014 124(2):188-195), опосредуемые высвобождением TNF-альфа и IFN-гамма среди других цитокинов, помимо того факта, что композиции BiTE имеют очень короткий период полувыведения, требующий продолжительных инфузий на протяжении от четырех до восьми недель для поддержания BiTE в пределах терапевтического окна в течение достаточного времени для достижения терапевтического эффекта.

[0004] Протеазы представляют собой ферменты, которые способны расщеплять белки и пептиды в результате гидролиза пептидных связей. Протеазы задействованы в различных функциях, регулируют судьбу и активность многих белков, создают или инактивируют биологически активные молекулы, влияют на клеточную пролиферацию и дифференцировку, морфогенез и ремоделирование тканей, участвуют в процессинге белков и даже задействованы в молекулярной передаче сигналов. В результате действия протеаз и белковых ответов они играют роль в ангиогенезе, заживлении ран, гемостазе, свертывании крови, воспалении, иммунитете, некрозе, апоптозе и прогрессировании или ослаблении заболеваний, включая рак. В качестве примера, исследования показали значение матриптазы как прогностического маркера при различных раковых заболеваниях человека. При раке предстательной железы и шейки матки повышается экспрессия матриптазы на уровне мРНК и белка в опухолевых поражениях по сравнению с

нормальной тканью, и существует положительная корреляция между экспрессией матриптазы и гистопатологической степенью дифференцировки опухоли (Lee JW, et al. Increased expression of matriptase is associated with histopathologic grades of cervical neoplasia. Hum Pathol. (2005) 36(6):626-33). Тогда как в нормальных яичниках матриптаза экспрессируется на низком уровне, ее экспрессия повышается на ранних стадиях карциномы яичника (Tanimoto H., et al., Transmembrane serine protease TADG-15 (ST14/Matriptase/MT-SP1): expression and prognostic value in ovarian cancer. Br J Cancer. (2005) 92(2):278-83). Аналогично, матриксные металлопротеиназы (MMP) являются важным маркером при раке, поскольку они присутствуют практически при всех типах рака человека. MMP могут экспрессироваться здоровыми фибробластами в прилегающей к опухолям строме, ассоциированных с раком фибробластах или нефибробластическими раковыми клетками, где они могут влиять на окружение опухоли, способствуя ангиогенезу, росту и метастазированию опухоли (Bhowmick, N.A., Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. Nature, 432 (2004), pp. 332-337). Аналогично, легумаин сверхэкспрессируется в большинстве солидных опухолей человека (Liu, C., et al. Overexpression of Legumain in Tumors Is Significant for Invasion/Metastasis and a Candidate Enzymatic Target for Prodrug Therapy. Cancer Res. (2003) 63(11):2957-2964). Важной функцией опухолевых протеаз является растворение внеклеточного матрикса, в результате чего происходит инвазия и инфильтрирующий рост опухолевых клеток в нормальной ткани. Эти протеазы также предохраняют опухоль от защитных механизмов организма за счет расщепления и инактивации, например, антител, цитокинов, факторов роста, факторов комплемента, факторов свертывания и посредников, которые могли бы ограничить или ингибировать опухоль. Из-за наличия таких опухолеассоциированных протеаз в настоящее время признана необходимость в разработке активируемых композиций биспецифических фрагментов антител, которые избирательно активируются в непосредственной близости от протеаз раковых или опухолевых клеток, что приводит к способности направлять эффекторные клетки на раковые клетки-мишени и осуществлять уничтожение клеток.

[0005] Поскольку чувствительные к протеазе пептиды могут быть включены в терапевтические биологические препараты для придания определенных свойств интактному лекарственному средству или биологическому препарату или продукту их обработки протеазой, существует необходимость в выявлении новых пептидных

субстратов для протеаз, ассоциированных с пораженными тканями, и включении этих пептидных субстратов в различные терапевтические, диагностические и профилактические композиции пролекарств как ключевом механизме для активации таких композиций, улучшения терапевтического индекса и результата.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Остается значительная потребность в альтернативных терапевтических средствах, которые обладают фармакологическими преимуществами форматов биспецифических антител и при этом повышенной безопасностью, меньшим количеством побочных эффектов, повышенной селективностью и/или улучшенными фармацевтическими или фармакокинетическими свойствами, такими как способ введения, требующий менее частого введения или просто введения одной инъекцией.

[0007] В данном изобретении предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие расщепляемые высвобождающие сегменты (RS), которые могут найти применение в лечении или предупреждении заболеваний, включающих онкологические, аутоиммунные и воспалительные заболевания, но не ограничивающиеся ими. Рекомбинантные полипептиды, содержащие высвобождаемые сегменты, описанные в данном документе, могут удовлетворять существующие потребности и обладают превосходством в одном или нескольких аспектах, включая специальный дизайн, обеспечивающий полезные свойства, описанные в данном документе.

[0008] В первом аспекте изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие первый высвобождающий сегмент (RS1), где RS1 представляет собой субстрат для расщепления протеазой млекопитающего. В одном воплощении RS1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88% или по меньшей мере на 89%, или по меньшей мере на 90%, или по меньшей мере на 91%, или по меньшей мере на 92%, или по меньшей мере на 93%, или по меньшей мере на 94%, или по меньшей мере на 95%, или по меньшей мере на 100% последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 1, где RS1 представляет собой субстрат для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В другом воплощении RS1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88% или по меньшей мере на 89%, или по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 91%, или по меньшей мере на 92%, или по меньшей мере на 93%, или по меньшей мере на 94%, или по меньшей мере на 95%, или по меньшей мере на 96%, или по меньшей мере на 97%, или

по меньшей мере на 100% последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 2, где RS1 представляет собой субстрат для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В другом воплощении RS1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей, приведенных в Таблице 1, где RS1 представляет собой субстрат для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В другом воплощении RS1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей, приведенных в Таблице 2, где RS1 представляет собой субстрат для одной или более чем одной протеазы млекопитающего.

[0009] В другом аспекте данного изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и дополнительно содержащие первую связывающую группировку (FBM), обладающую аффинностью связывания с целевым клеточным маркером на ткани-мишени или клетке-мишени. В одном воплощении FBM представляет собой антитело, цитокин, клеточный рецептор или их фрагмент. В одном воплощении, когда рекомбинантный полипептид содержит RS1 и FBM, RS1 представляет собой субстрат для расщепления протеазой млекопитающего, где протеаза млекопитающего продуцирована тканью-мишенью, или клеткой-мишенью, или ко-локализована с тканью-мишенью или клеткой-мишенью. В другом воплощении, когда рекомбинантный полипептид содержит RS1 и FBM, RS1 представляет собой субстрат для расщепления множеством протеаз млекопитающего, где протеазы млекопитающего продуцируются тканью или клеткой-мишенью или ко-локализуется с тканью или клеткой-мишенью. RS1 композиций по изобретению может представлять собой субстрат сериновой протеазы и/или цистеиновой протеазы и/или металлопротеиназы. В одном воплощении RS1 представляет собой субстрат для протеазы, выбранной из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, урокиназы (uPA) и матриптазы. В другом воплощении RS1 представляет собой субстрат для протеазы, приведенной в Таблице 3. В некоторых воплощениях RS1 воплощений разработан таким образом, чтобы расщепляться множеством протеаз по одному, двум или трем сайтам расщепления в последовательности RS1. В одном воплощении RS1 представляет собой субстрат для расщепления по двум или более сайтам расщепления двумя или более протеазами, выбранными из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, урокиназы (uPA) и матриптазы. В другом воплощении RS1 представляет собой субстрат для расщепления по трем или более сайтам

расщепления тремя или более протеазами, выбранными из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, урокиназы (uPA) и матриптазы.

[0010] В частности, высвобождающие сегменты композиций по данному изобретению могут иметь разную скорость расщепления протеазами млекопитающих в каждом из сайтов расщепления. При конструировании высвобождающих сегментов определяли скорости расщепления относительно контрольного сегмента высвобождения, имеющего аминокислотную последовательность EAGRSANHEPLGLVAT, которая может расщепляться сериновой, цистеиновой и металлопротеиназой, как описано в Примере 43. В одном воплощении изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и FBM, где скорость расщепления RS1 легумаином, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой по меньшей мере в два раза быстрее по сравнению со скоростью расщепления контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT, той же самой протеазой в анализе *in vitro* при эквивалентных молярных концентрациях. В другом воплощении изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и FBM, где скорость расщепления RS1 легумаином, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой по меньшей мере в два раза медленнее по сравнению со скоростью расщепления контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT, той же самой протеазой в анализе *in vitro* при эквивалентных молярных концентрациях. В другом воплощении изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и FBM, где RS1 представляет собой субстрат для расщепления протеазой, выбранной из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой и где RS1 имеет эффективность расщепления по меньшей мере на 0,2 $\log_2$ или 0,4 $\log_2$, или 0,8 $\log_2$, или 1,0 $\log_2$ выше в конкурентном биохимическом анализе *in vitro* по сравнению с расщеплением той же самой протеазой контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT. В другом воплощении изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и FBM, где RS1 представляет собой субстрат для расщепления протеазой, выбранной из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой и где RS1 имеет эффективность расщепления по меньшей мере на 0,2 $\log_2$ или 0,4 $\log_2$, или 0,8 $\log_2$, или 1,0 $\log_2$ ниже в конкурентном биохимическом анализе *in vitro* по сравнению с расщеплением той же самой протеазой контрольной

последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT.

[0011] В другом аспекте изобретение относится к рекомбинантным полипептидам, содержащим RS1, FBM и по меньшей мере первую объемную группировку. Одним преимуществом различных композиций рекомбинантных полипептидов является то, что они могут быть объединены в форме пролекарства, где интактная композиция может быть активирована, оказавшись вблизи ткани-мишени или определенного клеточного окружения, в котором присутствуют протеазы млекопитающего, способные расщеплять высвобождающий сегмент и высвобождать FBM в участке, где его активность наиболее желательна. Например, когда рекомбинантный полипептид находится в интактном нерасщепленном состоянии, FBM имеет более низкую аффинность к своему лиганду вследствие эффекта экранирования объемной группировкой. При его высвобождении после расщепления высвобождаемого сегмента протеазой млекопитающего, ко-локализованной с тканью-мишенью, например, в опухолевой ткани, FBM вновь обретает полноценную способность связываться с целевым клеточным маркером, поскольку он больше не экранирован объемной группировкой. В некоторых воплощениях объемная группировка представляет собой первый удлиненный рекомбинантный полипептид (XTEN1). В одном воплощении XTEN1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 8 или Таблице 10. В другом воплощении XTEN1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% последовательности, выбранной из AE 144_1A, AE 144_2A, AEE144_2B, AE 144_3A, AE144_3B, AE 144_4A, AE 144_4B, AE 144_5A, AE 144_6B, AE284, AE288_1, AE288_2, AE288_3, AE576, AE864, AE864_2, AE865, AE866, AE867, AE867_2 и AE868. В одном воплощении рекомбинантный полипептид, содержащий RS1, FBM и XTEN1, имеет в нерасщепленном состоянии следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: FBM-RS1-XTEN1. В другом воплощении рекомбинантный полипептид, содержащий RS1, FBM и XTEN1, имеет в нерасщепленном состоянии следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-FBM. Так, в воплощениях рекомбинантных полипептидов, содержащих RS1, FBM и XTEN1, после расщепления RS1 протеазой млекопитающего, XTEN1 и FBM высвобождаются из рекомбинантного полипептида.

[0012] В другом аспекте изобретение относится к рекомбинантным полипептидам, содержащим RS1, FBM и XTEN1, где FBM представляет собой фрагмент антитела. В одном воплощении FBM представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fv, Fab, Fab′, Fab′-SH, линейного антитела и одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv). В некоторых воплощениях фрагмент антитела FBM обладает аффинностью связывания с антигеном эффекторной клетки, экспрессируемым на поверхности эффекторной клетки, выбранной из плазматической клетки, Т-клетки, В-клетки, цитокин-индуцированной киллерной клетки (CIK клетки), тучной клетки, дендритной клетки, регуляторной Т-клетки, (RegT-клетки), хелперной Т-клетки, миелоидной клетки и NK-клетки. В одном воплощении фрагмент антитела FBM обладает аффинностью связывания с антигеном эффекторной клетки, экспрессируемым на поверхности Т-клетки. В другом воплощении фрагмент антитела FBM обладает аффинностью связывания с CD3. В одном воплощении фрагмента антитела FBM, обладающий аффинностью связывания с CD3, содержит VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3. В другом воплощении фрагмента антитела FBM, обладающий аффинностью связывания с CD3, содержит VL и VH, выбранные из последовательностей, приведенных в Таблице 4. В другом воплощении фрагмента антитела FBM, обладающий аффинностью связывания с CD3, содержит определяющие комплементарность области (CDR), происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3. В другом воплощении фрагмента антитела FBM, обладающий аффинностью связывания с CD3, содержит область CDR-H1, область CDR-H2, область CDR-H3, область CDR-L1, область CDR-L2 и область CDR-H3, каждая из которых происходит из моноклонального антитела из Таблицы 4.

[0013] В другом аспекте изобретение относится к рекомбинантным полипептидам, содержащим RS1, XTEN1, FBM и вторую связывающую группировку (SBM), где SBM представляет собой фрагмент антитела, обладающий аффинностью связывания с маркером клетки-мишени. В одном воплощении каждый из FBM и SBM представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fv, Fab, Fab′, Fab′-SH, линейного антитела и одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv) или VL и VH у FBM и SBM сконструированы в виде одноцепочечного диатела. В некоторых воплощениях фрагмент антитела SBM обладает аффинностью связывания с целевым

клеточным маркером на опухолевой клетке или раковой клетке. В одном воплощении фрагмент антитела SBM обладает аффинностью связывания с маркером клетки-мишени, выбранным из маркеров клетки-мишени, приведенных в Таблице 5. В другом воплощении фрагмент антитела SBM обладает аффинностью связывания с маркером клетки-мишени, выбранным из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, ангиопоэтина 2, B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-

трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1). В другом воплощении фрагмент антитела SBM содержит VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с маркером клетки-мишени. В другом воплощении фрагмент антитела SBM содержит VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, где VL и VH выбраны из последовательностей, приведенных в Таблице 5. В другом воплощении фрагмента антитела SBM содержит область CDR-H1, область CDR-H2, область CDR-H3, область CDR-L1, область CDR-L2 и область CDR-H3, каждая из которых происходит из моноклонального антитела, приведенного в Таблице 5. В следующих воплощениях, где рекомбинантный полипептид содержит FBM, SBM, RS1 и XTEN1, в нерасщепленном состоянии рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: SBM-FBM-RS1-XTEN1, FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN1-RS1-SBM-FBM, XTEN1-RS1-FBM-SBM, или диателo-RS1-XTEN1, или XTEN1-RS1-диателo, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM. В одном воплощении изобретения предложен рекомбинантный полипептид, содержащий FBM, SBM, RS1 и XTEN1, где рекомбинантный полипептид содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 14.

В конкретном воплощении при расщеплении RS1 протеазой млекопитающего и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида FBM и SBM остаются слитыми и способны связываться и соединять вместе Т-клетку, несущую антиген CD3, и опухолевую клетку, несущую маркер клетки-мишени, в анализе *in vitro,* включающем как Т-клетки, так и опухолевые клетки. При связывании и соединении вместе Т-клетки,

несущей антиген CD3, и опухолевой клетки, несущей маркер клетки-мишени, посредством слитых FBM и SBM, соединение вместе Т-клетки и опухолевой клетки приводит к цитотоксической активности против опухолевой клетки, в анализе *in vitro*, как определено посредством количественного определения лизиса клеток или высвобождения внутриклеточных компонентов. В одном воплощении рекомбинантного полипептида, где RS1 расщепляется, а FBM и SBM высвобождаются, высвобожденные слитые FBM и SBM способны вызывать более выраженный клеточный лизис опухолевых клеток по сравнению с клеточным лизисом, вызываемым нерасщепленным рекомбинантным полипептидом в анализах *in vitro*, выполняемых при эквивалентных молярных концентрациях, как определено посредством количественного определения лизиса клеток или высвобождения внутриклеточных компонентов. В одном воплощении клеточный лизис, вызываемый высвобождаемыми FBM и SBM рекомбинантного полипептида, по меньшей мере в 10 раз превышает или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мерев 300 раз, или по меньшей мере в 1000 раз, или по меньшей мере в 10000 раз превышает клеточный лизис, вызываемый нерасщепленным рекомбинантным полипептидом в анализах *in vitro*, выполняемых при эквивалентных молярных концентрациях, как определено посредством количественного определения лизиса клеток или высвобождения внутриклеточных компонентов. В следующих воплощениях цитотоксическая активность и/или клеточный лизис опухолевых клеток может быть опосредован мишень-специфической активацией Т-клеток. В одном воплощении активация Т-клеток, вызываемая высвобождаемыми FBM и SBM, по меньшей мере в 10 раз превышает или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мерев 300 раз, или по меньшей мере в 1000 раз, или по меньшей мере в 10000 раз превышает активацию, вызываемую нерасщепленным рекомбинантным полипептидом, как определено посредством количественного определения эффекторных молекул Т-клеток в исследованиях *in vitro*, выполняемых в эквивалентных молярных концентрациях. Конкретной характеристикой, обеспечиваемой дизайном рекомбинантных полипептидов по изобретению, является то, что при расщеплении RS1 протеазой млекопитающего и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида FBM и SBM остаются слитыми и демонстрируют повышенную аффинность связывания с антигеном CD3 и/или маркером клетки-мишени в анализе *in vitro*, включающем антиген CD3 и/или маркер клетки-мишени, по сравнению с аффинностью связывания интактного

нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или маркером клетки-мишени, при исследовании в эквивалентных молярных концентрациях. В одном воплощении аффинность связывания высвобожденной FBM с антигеном CD3 или высвобожденной SBM с маркером клетки-мишени по меньшей мере в 10 раз выше или по меньшей мере в 30 раз, по меньшей мере в 100 раз или по меньшей мере в 300 раз или по меньшей мере в 1000 раз выше при определении в виде константы K_d в анализе *in vitro* по сравнению с аффинностью связывания интактного нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени при исследовании в эквивалентных молярных концентрациях. В следующем воплощении константа связывания K_d высвобожденной FBM рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 составляет от 10^{-5} до 10^{-9} M, а K_d связывания высвобожденной SBM со специфичным для мишени маркером составляет от 10^{-5} до 10^{-9} M. В другом воплощении аффинность связывания высвобожденного SBM с маркером клетки-мишени по меньшей мере на порядок выше по сравнению с низкой аффинностью связывания высвобожденной FBM с антигеном CD3 при определении в виде константы K_d в анализе *in vitro* при исследовании в эквивалентных молярных концентрациях. Используемый анализ *in vitro* может быть выбран из анализа целостности клеточной мембраны, анализа смешанной клеточной культуры, FACS-анализа с иодидом пропидия, анализа поступления трипанового синего, фотометрического анализа высвобождения фермента, радиометрического анализа высвобождения 51Cr, флуориметрического анализа высвобождения европия, анализа высвобождения кальцеина-AM, фотометрического MTT-анализа, XTT-анализа, WST-1-анализа, анализа с аламаровым синим, радиометрического анализа включения 3H-Thd, клоногенного анализа для измерения активности деления клеток, флуориметрического анализа с родамином 123 для измерения митохондриального трансмембранного градиента, анализа апоптоза по экспозиции фосфатидилсерина при помощи FACS, TUNEL-анализа на основе ELISA, сэндвич-ELISA, анализа каспазной активности, анализа высвобождения лактатдегидрогеназы (LDH) с применением клеток и анализа морфологии клеток или любой их комбинации.

[0014] В другом аспекте изобретение относится к рекомбинантным полипептидам, содержащим RS1, FBM, SBM, XTEN1, имеющим элементы, описанные в воплощениях выше, и дополнительно содержащим второй высвобождающий сегмент (RS2), который является субстратом для расщепления протеазой млекопитающего и второй XTEN

(XTEN2). Изобретение предусматривает различные конфигурации рекомбинантных полипептидов, где рекомбинантный полипептид в нерасщепленном состоянии имеет следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM, или XTEN1-RS1-диателo-RS2-XTEN2, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM. В одном воплощении XTEN2 рекомбинантного полипептида содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 8 или Таблице 10. В другом воплощении XTEN2 рекомбинантного полипептида содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% последовательности, выбранной из AE 144_1A, AE 144_2A, AEE144_2B, AE 144_3A, AE144_3B, AE 144_4A, AE 144_4B, AE 144_5A, AE 144_6B, AE284, AE288_1, AE288_2, AE288_3, AE576, AE864, AE864_2, AE865, AE866, AE867, AE867_2 и AE868. В некоторых воплощениях рекомбинантных полипептидов по изобретению последовательность RS2 идентична последовательности RS1. В других воплощениях последовательность RS2 отличается от последовательности RS1 и каждая из них содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88%, или по меньшей мере на 89%, или по меньшей мере на 90%, или по меньшей мере на 91%, или по меньшей мере на 92%, или по меньшей мере на 93%, или по меньшей мере на 94%, или по меньшей мере на 95% последовательностям, выбранным из последовательностей, приведенных в Таблице 1 или Таблице 2. В другом воплощении последовательность RS2 отличается от последовательности RS1 и каждая из них содержит последовательность, выбранную из последовательностей, приведенных в Таблице 1 или Таблице 2. В другом воплощении изобретения предложен рекомбинантный полипептид, содержащий XTEN1, RS1, SBM, FBM, RS2 и XTEN2, где рекомбинантный полипептид содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 15 или Таблице 18.

[0015] В одном воплощении изобретения предложен рекомбинантный полипептид,

содержащий RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, i) каждый из RS1 и RS2, представляет собой субстрат для расщепления протеазой млекопитающего и каждый содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 97% или на 100% идентичную последовательности, выбранной из последовательностей Таблицы 2; ii) FBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, специфично связывающимся с эффекторной клеткой; iii) SBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени; iv) каждый из XTEN1 и XTEN2 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 10; и v) рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM. В следующем воплощении эффекторная клетка представляет собой Т-клетку, а маркер клетки-мишени выбран из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, ангиопоэтина 2, B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-

пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1). Последовательности RS1 и RS2 могут быть идентичными или могут быть различными последовательностями, выбранными из Таблицы 2. В одном воплощении последовательность RS2 отличается от последовательности RS1 и каждая представляет собой субстрат для отличной протеазы, приведенной в Таблице 3. В другом воплощении последовательности RS1 и RS2 идентичны и каждая представляет собой субстрат для двух или более протеаз, выбранных из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, урокиназы (uPA) и матриптазы. Конкретной характеристикой следующих воплощений является то, что при расщеплении RS1 и RS2 протеазой(ами) млекопитающего и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида FBM и SBM остаются слитыми и способны связываться и соединять вместе Т-клетку, несущую

антиген CD3, и опухолевую клетку, несущую маркер клетки-мишени, в анализе *in vitro,* включающем как Т-клетки, так и опухолевые клетки. Другой конкретной характеристикой следующих воплощений является то, что более низкая способность рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии индуцировать лизис опухолевой клетки, несущей антиген-маркер клетки-мишени в анализе *in vitro*, включающем как Т-клетки, так и опухолевые клетки, по меньшей мере на два порядка ниже или по меньшей мере на три порядка ниже или по меньшей мере на четыре порядка ниже по сравнению с более выраженным лизисом, который индуцируют FBM или SBM, высвобожденные из рекомбинантного полипептида при расщеплении RS1 и RS2, при количественном определении клеточного лизиса или высвобождения внутриклеточных компонентов при анализе в эквивалентных молярных концентрациях. Другой конкретной характеристикой следующих воплощений рекомбинантного полипептида, содержащего RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, является то, что аффинность связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени в анализе *in vitro*, включающем антиген CD3 или маркер клетки-мишени, по меньшей мере на порядок меньше при определении в виде константы K_d по сравнению с аффинностью связывания интактного нерасщепленного рекомбинантного полипептида, содержащего RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1, но не содержащего второго высвобождаемого сегмента и второго XTEN, с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени, при анализе в эквивалентных молярных концентрациях. В одном воплощении аффинность связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида, рекомбинантного полипептида, содержащего RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени в анализе *in vitro*, включающем антиген CD3 или маркер клетки-мишени, по меньшей мере на два порядка меньше, или по меньшей мере на три порядка меньше, или по меньшей мере на четыре порядка меньше при определении в виде константы K_d в анализе *in vitro* по сравнению с аффинностью связывания FBM или SBM, высвобожденных из рекомбинантного полипептида при расщеплении RS1 и RS2, с антигеном CD3 или маркером клетки-мишени, при анализе в эквивалентных молярных концентрациях. Используемый анализ *in vitro* может быть выбран из анализа целостности клеточной мембраны, анализа смешанной клеточной культуры, FACS-анализа с иодидом пропидия, анализа поступления трипанового синего, фотометрического анализа высвобождения фермента, радиометрического анализа высвобождения 51Cr,

флуориметрического анализа высвобождения европия, анализа высвобождения кальцеина-АМ, фотометрического МТТ-анализа, XTT-анализа, WST-1-анализа, анализа с аламаровым синим, радиометрического анализа включения 3H-Thd, клоногенного анализа для измерения активности деления клеток, флуориметрического анализа с родамином 123 для измерения митохондриального трансмембранного градиента, анализа апоптоза по экспозиции фосфатидилсерина при помощи FACS, TUNEL-анализа на основе ELISA, сэндвич-ELISA, анализа каспазной активности, анализа высвобождения лактатдегидрогеназы (LDH) с применением клеток и анализа морфологии клеток или любой их комбинации.

[0016] Предложенные композиции рекомбинантного полипептида могут найти применение по различным назначениям, включая терапевтические и диагностические. В одном аспекте описание относится к композициям рекомбинантного полипептида, которые вводят субъекту. Как будет понятно специалистам в данной области техники, при введении рекомбинантного полипептида, имеющего элементы, описанные в приведенных выше воплощениях, субъекту, имеющему клетку-мишень, такую как опухолевая, высвобождающий(е) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида способен(ы) расщепляться, оказавшись в непосредственной близости от опухоли, где опухоль или окружающая ткань экспрессируют одну или несколько протеаз, для которых высвобождающий(е) сегмент(ы) является(ются) субстратом. В одном воплощении при расщеплении высвобождающего(их) сегмента(ов) протеазой(ами) и высвобождении FBM и SBM из введенного рекомбинантного полипептида у субъекта, слитые FBM и SBM способны связываться и соединять вместе Т-клетку, несущую антиген CD3, и опухолевую клетку, несущую опухолеспецифичный маркер, который является лигандом SBM у субъекта. При соединении вместе Т-клетки, несущей антиген CD3, и опухолевой клетки, несущей маркер опухолевой клетки, посредством высвобожденных FBM и SBM, образовании иммунологического синапса, связывание приводит к высвобождению из Т-клетки одной или более чем одной Т-клеточной эффекторной молекулы. В одном воплощении одна или более чем одна эффекторная молекула выбрана из TNF-альфа, IFN-гамма, интерлейкина 2, перфорина и гранзимов. При соединении вместе Т-клетки, несущей антиген CD3, и опухолевой клетки, несущей опухолеспецифичный маркер, лизис опухолевой клетки у субъекта осуществляется Т-клеточными эффекторными молекулами. В следующих воплощениях субъект выбран из группы, состоящей из мыши, крысы,

обезьяны, собаки и человека.

[0017] В другом аспекте описание относится к фармакокинетическим свойствам рекомбинантных полипептидов по изобретению и компонентам, высвобождаемым после введений субъекту. В одном воплощении нерасщепленный рекомбинантный полипептид демонстрирует конечный период полувыведения после введения однократной дозы субъекту, который по меньшей мере в 5 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз или в 100 раз больше по сравнению с конечным периодом полувыведения слитых FBM и SBM, не связанных с рекомбинантным полипептидом, когда субъекту вводят нерасщепленный рекомбинантный полипептид и слитые FBM и SBM в эквивалентной молярной дозе. В другом воплощении после введения терапевтически эффективной однократной дозы рекомбинантного полипептида субъекту, имеющему одну или более чем одну опухолеассоциированную протеазу, способную расщеплять высвобождающий(е) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида, слитые FBM и SBM расщепляются и высвобождаются из рекомбинантного полипептида, демонстрирующего конечный период полувыведения, который по меньшей мере в 5 раз, в 10 раз или в 20 раз, или в 30 раз, или в 50 раз или в 100 раз меньше по сравнению с конечным периодом полувыведения соответствующего рекомбинантного полипептида, который не расщепляется у субъекта. В другом воплощении после введения однократной терапевтически эффективной дозы рекомбинантного полипептида субъекту, имеющему опухолеассоциированную протеазу, способную расщеплять высвобождающий(е) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида, концентрация Cmax в плазме высвобожденных FBM и SBM не превышает приблизительно 0,01 нг/мл или приблизительно 0,1 нг/мл или приблизительно 1 нг/мл или приблизительно 10 нг/мл или приблизительно 100 нг/мл. В другом воплощении после введения однократной терапевтически эффективной дозы рекомбинантного полипептида субъекту, имеющему опухолеассоциированную протеазу, способную расщеплять высвобождающий(е) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида, площадь под кривой зависимости концентрации в плазме высвобожденных FBM и SBM от времени, составляющего по меньшей мере в 10 раз ниже или по меньшей мере в 30 раз ниже, или по меньшей мере в 100 раз ниже по сравнению с площадью под кривой нерасщепленного рекомбинантного полипептида у субъекта В следующих воплощениях субъект выбран из группы, состоящей из мыши, крысы, обезьяны, собаки и человека.

[0018] В данном описании предложены фармацевтические композиции, содержащие

любой из описанных в данном документе рекомбинантных полипептидов наряду с одним или более чем одним фармацевтически приемлемым эксципиентом. В одном воплощении фармацевтическая композиция составлена для внутрикожного, подкожного, внутривенного, внутриартериального, интраабдоминального, внутрибрюшинного, внутриоболочечного или внутримышечного введения. В другом воплощении фармацевтическая композиция находится в жидкой форме. В другом воплощении фармацевтическая композиция находится в предварительно заполненном шприце для однократной инъекции. В другом воплощении фармацевтическая композиция составлена в виде лиофилизированного порошка, подлежащего растворению перед введением.

[0019] Данный документ подразумевает применение рекомбинантного полипептида по любому из описанных воплощений для получения лекарственного средства для лечения заболевания у субъекта. В одном воплощении заболевание, подлежащее лечению лекарственным средством, выбрано из группы, состоящей из карциномы, лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, ER/PR+ рака молочной железы, Her2+ рака молочной железы, трижды негативного рака молочной железы, рака толстой кишки, рака толстой кишки со злокачественным асцитом, слизеобразующих опухолей, рака предстательной железы, рака головы и шеи, рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, опухоли Вильмса, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, рака пищевода, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, арренобластомы, аденокарциномы, саркомы и В-клеточного хронического лимфолейкоза.

[0020] В другом аспекте описание относится к способам лечения заболевания у субъекта. В одном воплощении изобретения предложен способ лечения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту, которому это необходимо, одной или более чем одной терапевтически эффективной дозы рекомбинантного полипептида или фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид по любом из описанных

воплощений. В одном воплощении заболевание, которое лечат способом, выбрано из группы, состоящей из карцином, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака предстательной железы, рака головы и шеи, любой формы рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, эпителиальных злокачественных новообразований брюшной полости со злокачественным асцитом, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака пищевода, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, аденокарциномы, сарком любого происхождения, первичных гемобластозов, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастении гравис, Базедовой болезни, тиреоидита Хашимото или синдрома Гудпасчера. В другом воплощении изобретения предложен способ лечения, в котором фармацевтическую композицию или рекомбинантный полипептид вводят субъекту в виде одной или более чем одной терапевтически эффективной дозы, вводимых дважды в неделю, один раз в неделю, каждые две недели, каждые три недели или раз в месяц. В другом воплощении способа лечения фармацевтическую композицию или рекомбинантный полипептид вводят субъекту в виде одной или более чем одной терапевтически эффективной дозы в течение периода времени, составляющего по меньшей мере две недели, по меньшей мере один месяц или по меньшей мере два месяца, или по меньшей мере три месяца, или по меньшей мере четыре месяца, или по меньшей мере пять месяцев, или по меньшей мере шесть месяцев. В способе лечения дозу можно вводить внутрикожно, подкожно, внутривенно, внутриартериально, интраабдоминально, внутрибрюшинно, внутриоболочечно или внутримышечно. В другом воплощении способа лечения дозу фармацевтической композиции или рекомбинантного полипептида вводят в виде болюсной дозы или путем инфузии от 5 минут до 96 часов, в переносимой пациентом и обеспечивающей

максимальную безопасность и эффективность. В следующих воплощениях способа лечения вводимая доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг В другом воплощении способа лечения первоначальная доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, а последующая доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг. В другом воплощении способа лечения введение субъекту приводит к концентрации рекомбинантного полипептида в плазме по меньшей мере от приблизительно 0,1 нг/мл до по меньшей мере

приблизительно 2 нг/мл или более по меньшей мере в течение приблизительно 3 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток или по меньшей мере приблизительно 21 суток. В следующих воплощениях способа лечения субъект выбран из группы, состоящей из мыши, крысы, обезьяны, собаки и человека.

[0021] В другом аспекте описание относится к схемам лечения. В одном воплощении в схеме лечения используют рекомбинантный полипептид или фармацевтическую композицию, описанные в данном документе, для применения в способе лечения заболевания, причем способ включает введение фармацевтической композиции или рекомбинантного полипептида субъекту с заболеванием, возможно в соответствии со схемой лечения, включающей два или более последовательных введения терапевтически эффективной дозы. Заболевание, которое лечат согласно схеме лечения, выбрано из группы, состоящей из карцином, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака предстательной железы, рака головы и шеи, любой формы рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, эпителиальных злокачественных новообразований брюшной полости со злокачественным асцитом, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака пищевода, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, аденокарциномы, сарком любого происхождения, первичных гемобластозов, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастении гравис, Базедовой болезни, тиреоидита Хашимото или синдрома Гудпасчера. В другом воплощении фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид для применения в схеме лечения является частью указанного цикла лечения. Цикл лечения может включать введение фармацевтической композиции или рекомбинантного полипептида два раза в

неделю, каждую неделю, каждые 10 суток, каждые две недели, каждые три недели или каждый месяц в каждом цикле лечения. В вышеупомянутых воплощениях схема лечения приводит к улучшению клинического параметра или конечной точки, связанной с заболеванием у субъекта. Клинический параметр или конечная точка, связанная с заболеванием у субъекта, могут представлять собой любой параметр или конечную точку или любую комбинацию из группы, состоящей из уменьшения опухоли в виде полного, частичного или неполного ответа; времени до прогрессирования, времени до констатации отсутствия эффекта лечения, реакции биомаркера; выживаемости без прогрессирования; выживаемости без заболевания; времени до рецидивирования; времени до метастазирования; времени общей выживаемости; улучшения качества жизни и улучшения симптомов.

[0022] В другом аспекте изобретения предложены наборы. В одном воплощении изобретения предложен набор, содержащий фармацевтическую композицию по любому из описанных воплощений вместе с контейнером и этикеткой или вкладышем в упаковку, которые находятся на контейнере или ассоциированы с ним.

[0023] В следующем воплощении изобретения предложена одна или более чем одна выделенная нуклеиновая кислота, содержащая (а) полинуклеотид, кодирующий рекомбинантный полипептид по любому из описанных воплощений или (б) комплемент полинуклеотида (а). В изобретении также предложен экспрессионный вектор, содержащий последовательности полинуклеотида, кодирующие рекомбинантный полипептид по любому из описанных воплощений и рекомбинантную регуляторную последовательность, функционально связанную с последовательностью полинуклеотида. В изобретении также предложена выделенная клетка-хозяин, содержащая указанный экспрессионный вектор. В одном воплощении клетка-хозяин является прокариотической. В другом воплощении клетка-хозяин представляет собой *E. coli*.

[0024] В другом аспекте описание относится к способам получения активируемого рекомбинантного полипептида. В одном воплощении изобретения предложен способ получения композиции активируемого рекомбинантного полипептида, включающий: а) культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновокислотную конструкцию, кодирующую активируемый рекомбинантный полипептид в условиях, приводящих к экспрессии активируемого рекомбинантного полипептида, где активируемый рекомбинантный полипептид содержит RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, где: i)

каждый из RS1 и RS2 является субстратом для расщепления протеазой млекопитающего и каждый содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88% или по меньшей мере на 89% или по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 91% или по меньшей мере на 92% или по меньшей мере на 93% или по меньшей мере на 94% или по меньшей мере на 95% или на 100% последовательности, выбранной из последовательностей Таблицы 1 или Таблицы 2; ii) FBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3; iii) SBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени, выбранным из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, ангиопоэтина 2, B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора

роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1); iv) каждый из XTEN1 и XTEN2 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 8 или Таблице 10; iv) рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диатело-RS1-XTEN1, где диатело содержит VL и VH от FBM и SBM и б) получение композиции активируемого полипептида. В вышеупомянутом способе активируемый рекомбинантный полипептид активируется при расщеплении RS1 и RS2 одной или более чем одной протеазой, способными расщеплять RS1 и RS2, в результате чего FBM и SBM высвобождаются из композиции, при этом FBM и SBM остаются слитыми. В одном воплощении способа XTEN1 и XTEN2 активируемого рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии мешают специфическому связыванию FBM с CD3 и SBM с маркером клетки-мишени, так что константа диссоциации (K_d) FBM активируемого рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии по отношению к CD3 или SBM по отношению к маркеру клетки-мишени по меньшей мере в 100 раз выше по сравнению с FBM или SBM, высвобождаемым из активируемого рекомбинантного

полипептида при расщеплении RS1 и RS2 при определении в анализе *in vitro*, включающем целевой клеточный маркер, при эквивалентных молярных концентрациях.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0025] Приведенное ниже подробное описание и прилагаемые графические материалы, на которых представлены иллюстративные варианты осуществления, помогают лучше понять признаки и преимущества изобретения.

[0026] На Фиг. 1 приведены различные схематические изображения, используемые в графических материалах, вместе с описанием того, что они представляют.

[0027] На Фиг. 2 показана композиция ProTIA (форма рекомбинантной полипептидной композиции, описанной в данном документе), которая находится в нерасщепленной «про» форме и в расщепленном состоянии после воздействия протеазы, ассоциированной с опухолью. Также описаны некоторые свойства обеих форм композиций, не являющиеся ограничивающими.

[0028] На Фиг. 3 показана нерасщепленная «про» форма ProTIA на Фиг. 3A и расщепленная форма на Фиг. 3B, где нерасщепленная форма изображена вблизи эффекторной клетки и опухолеассоциированной клетки, каждая из которых имеет поверхностные антигены; при этом нерасщепленная форма на Фиг. 3A не способна одновременно связывать обе клетки из-за стерических препятствий и экранирующего влияния XTEN на связывающие фрагменты, в то время как расщепленная форма на Фиг. 3B с высвобожденными связывающими фрагментами позволяет одновременно связывать две клетки и обеспечивает иммунную активацию эффекторной клеткой против опухолеассоциированной клетки-мишени.

[0029] На Фиг. 4 схематически изображены две конфигурации композиции ProTIA, где показано, что высвобождающий сегмент и XTEN может быть присоединен либо к группировке, связывающей эффекторную клетку, либо к группировке, связывающей опухолевый антиген.

[0030] На Фиг. 5 схематически изображены две конфигурации композиции ProTIA, где два высвобождающих сегмента и два XTEN присоединены к связывающим группировкам. В случае Фиг. 5A, первые RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку, а вторые RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген, и композиция будет иметь конфигурацию scFv. В случае Фиг. 5B оба RS и XTEN присоединены либо к группировке, связывающей эффекторную клетку

(слева), либо к группировке, связывающей опухолевый антиген (справа), и связывающие группировки будут иметь конфигурацию диатела (таким образом, позволяя получать композицию в рекомбинантной форме).

[0031] На Фиг. 6 схематически изображены две конфигурации композиций ProTIA, в которых XTEN представляет собой полипептид XTEN, а RS и XTEN присоединены либо к группировке, связывающей эффекторную клетку (слева), либо RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген (справа). На Фиг. 6A-D показаны альтернативные конфигурации, где связывающие группировки находятся на N- или C-конце.

[0032] На Фиг. 7 схематически изображены две конфигурации композиции ProTIA, где два высвобождающих сегмента и два XTEN присоединены к связывающим группировкам. В случае Фиг. 7A, первые RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку, а вторые RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген, и композиция будет иметь конфигурацию scFv. В случае Фиг. 7B оба RS и XTEN присоединены либо к группировке, связывающей эффекторную клетку (слева), либо к группировке, связывающей опухолевый антиген (справа), и связывающие группировки будут иметь конфигурацию диатела (таким образом, позволяя получать композицию в рекомбинантной форме).

[0033] На Фиг. 8 схематически изображены две конфигурации композиций ProTIA, в которых RS и XTEN присоединены либо к группировке, связывающей эффекторную клетку (слева), либо к группировке, связывающей опухолевый антиген (справа). На Фиг. 8A показаны связывающие группировки, представляющие собой XTEN. На Фиг. 8B показаны связывающие группировки, представляющие собой альбумин. На Фиг. 8C показаны связывающие группировки, представляющие собой Fc фрагмент.

[0034] На Фиг. 9 схематически изображены две конфигурации композиции ProTIA, где два высвобождающих сегмента и два XTEN присоединены к связывающим группировкам. На Фиг. 9A изображены три конфигурации, в которых два RS и XTEN присоединены как к группировке, связывающей эффекторную клетку так и к группировке, связывающей опухолевый антиген (слева), к группировке, связывающей опухолевый антиген (в центре) или к группировке, связывающей эффекторную клетку (справа). На Фиг. 9B изображены четыре конфигурации, в которых один RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку и один RS и альбумин присоединены к группировке,

связывающей опухолевый антиген (слева вверху), один RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген и один RS и альбумин присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку (справа вверху), как RS и XTEN, так и RS и альбумин присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген (слева внизу), и как RS и XTEN, так и RS и альбумин присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку (справа внизу). На Фиг. 9C изображены четыре конфигурации, в которых один RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку и один RS и Fc присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген (слева вверху), один RS и XTEN присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген и один RS и Fc присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку (справа вверху), как RS и XTEN, так и RS и Fc присоединены к группировке, связывающей опухолевый антиген (слева внизу), и как RS и XTEN, так и RS и Fc присоединены к группировке, связывающей эффекторную клетку (справа внизу).

[0035] На Фиг. 10 схематически изображены ProTIA в непосредственной близости от опухолевой ткани (слева) и нормальной ткани (справа), при этом более проницаемая сосудистая сеть в опухолевой ткани позволяет ProTIA проникать в ткань, где опухолеассоциированные протеазы могут воздействовать на RS, расщепляя его и высвобождая связывающие группировки, которые, в свою очередь, могут связываться и соединять вместе эффекторную клетку и ассоциированную с опухолью клетку. В случае нормальной ткани проникновение либо блокируется более плотными барьерами сосудистой сети, либо, в случае, когда ProTIA проникает, ProTIA остается в «про» форме и, несмотря на способность связывать эффекторную клетку, опухолевые клетки отсутствуют или, если присутствуют, имеющихся протеаз недостаточно для высвобождения связывающих группировок, результирующий эффект заключается в том, что иммунологический синапс не образуется.

[0036] На Фиг. 11 схематически изображены группировка, связывающая эффекторную клетку, группировка, связывающая опухолевый антиген, в конфигурации scFv, при этом каждая из пар VH/VL соединена линкерами и имеет тандемный формат.

[0037] На Фиг. 12 схематически изображены группировка, связывающая эффекторную клетку, группировка, связывающая опухолевый антиген в конфигурации одноцепочечного диатела, каждая из пар VH/VL соединена линкерами.

[0038] На Фиг. 13 приведены схематические изображения конструкций. На Фиг. 13A схематически изображено общее строение конструкций. На Фиг. 13B и 13C схематически изображены композиции ProTIA, в которых группировка, связывающая эффекторную клетку и группировка, связывающая опухолевый антиген находятся в различных перестановках в конфигурациях scFv (Фиг. 13B) [при этом вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL) связаны либо длинным внутримолекулярным линкером (L), либо более коротким межмолекулярным линкером (l)] и в конфигурациях одноцепочечного диатела (Фиг. 13C) [при этом вариабельный домены VH и VL связаны либо длинным линкером (L), либо более коротким межмолекулярным линкером (l).

[0039] На Фиг. 14 показана очистка нерасщепленной AC1278 из кондиционированной среды, как описано в Примере 2. На Фиг. 14A приведены примеры изображений, полученных после захвата AC1278 из кондиционированной среды методом IMAC и электрофоретического разделения в геле SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия); на Фиг. 14B показан анализ фракций при помощи SDS-PAGE на стадии дополнительной очистки при помощи HIC; на Фиг. 14C показан анализ фракций при помощи SDS-PAGE на стадии дополнительной очистки при помощи ImpRes-Q;

[0040] На Фиг. 15 показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1278, согласно описанию в Примере 2. На Фиг. 15A показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1278 методом аналитической эксклюзионной хроматографии SEC (сплошная линия) в сравнении с размерным стандартом XTEN (пунктирная линия); на Фиг. 15B показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1278 методом SDS-PAGE.

[0041] На Фиг. 16 показано получение расщепленной ProTIA-A с применением нерасщепленной AC1278, согласно описанию в Примере 2. На Фиг. 16A показан анализ методом SDS-PAGE реакционной смеси после расщепления MMP-9; на Фиг. 16B показан анализ методом SDS-PAGE смеси, расщепленной MMP-9, после очистки методом IMAC для удаления нерасщепленого сегмента XTEN.

[0042] На Фиг. 17 показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1278, согласно описанию в Примере 2. На Фиг. 17A показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1278 методом аналитической SEC (сплошная линия) в сравнении со стандартом

глобулярного белка (пунктирная линия); на Фиг. 17B показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1278 методом SDS-PAGE.

[0043] На Фиг. 18 показана очистка нерасщепленной AC1476 из кондиционированной среды, как описано в Примере 3. На Фиг. 18A приведены примеры изображений, полученных после захвата AC1476 из кондиционированной среды методом IMAC и электрофоретического разделения в геле SDS-PAGE; на Фиг. 18B показан анализ фракций при помощи SDS-PAGE на стадии дополнительной очистки при помощи HIC; на Фиг. 18C показан анализ фракций при помощи SDS-PAGE на стадии дополнительной очистки при помощи ImpRes-Q; на Фиг.

[0044] На Фиг. 19 показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476, согласно описанию в Примере 3. На Фиг. 19A показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476 методом аналитической хроматографии SEC (сплошная линия) в сравнении с размерным стандартом XTEN (пунктирная линия); на Фиг. 19B показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476 методом SDS-PAGE с окрашиванием Кумасси; на Фиг. 19C показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476 методом SDS-PAGE с окрашиванием серебром.

[0045] На Фиг. 20 показан дополнительный анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476, согласно описанию в Примере 3. На Фиг. 20A показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476 методом ESI-MS. 20B показан анализ выпущенной партии нерасщепленной AC1476 методом катионообменной хроматографии.

[0046] На Фиг. 21 показано получение расщепленной ProTIA-A с применением нерасщепленной AC1476, согласно описанию в Примере 3. На Фиг. 21A показан анализ методом SDS-PAGE реакционной смеси после расщепления MMP-9; на Фиг. 21B показан анализ методом SDS-PAGE фракций, полученных после анионообменной хроматографии смеси, расщепленной MMP-9, для удаления нерасщепленого субстрата и отщепленного сегмента XTEN.

[0047] На Фиг. 22 показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1476, согласно описанию в Примере 3. На Фиг. 22A показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1476 методом аналитической SEC (сплошная линия) в сравнении со стандартом глобулярного белка (пунктирная линия); на Фиг. 22B показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1476 методом SDS-PAGE с окрашиванием Кумасси; на Фиг. 22C показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1476 методом SDS-PAGE с

окрашиванием серебром.

[0048] На Фиг. 23 показан дополнительный анализ выпущенной партии расщепленной AC1476, согласно описанию в Примере 3. На Фиг. 23A показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1476 методом ESI-MS; на Фиг. 23B показан анализ выпущенной партии расщепленной AC1476 методом катионообменной хроматографии.

[0049] На Фиг. 24 показано связывание обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с его лигандом, как описано в Примере 4.

[0050] На Фиг. 25 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 6.

[0051] На Фиг. 26 показаны результаты эксперимента для определения специфичности *in vitro* ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 6.

[0052] На Фиг. 27 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 6.

[0053] На Фиг. 28 показаны результаты эксперимента для определения фармакокинетики обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 9.

[0054] На Фиг. 29 схематически изображены альтернативные N- и C-концевые конфигурации композиции, связывающей T-клетки. На Фиг. 29A показана конфигурация, в которой за группировкой, связывающей эффекторную клетку (ECBM), следует сегмент сайта высвобождения (RS) и XTEN, тогда как на Фиг. 29B показана конфигурация, в которой за XTEN следует сегмент RS, а затем ECBM.

[0055] На Фиг. 30 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в SK-OV-3, как описано в Примере 6.

[0056] На Фиг. 31 показаны результаты определения объема опухоли из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 10.

[0057] На Фиг. 32 показаны результаты определения массы тела из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 10.

[0058] На Фиг. 33 показаны результаты эксперимента для определения цитокинового профиля обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 12. На Фиг. 33A показаны результаты определения IL-2, а на Фиг. 33B показаны результаты определения IL-4.

[0059] На Фиг. 34 показаны результаты эксперимента для определения цитокинового профиля обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 12. На Фиг. 34A показаны результаты определения IL-6, а на Фиг. 34B показаны результаты определения IL-10.

[0060] На Фиг. 35 показаны результаты эксперимента для определения цитокинового профиля обработанной протеазой и необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 12. На Фиг. 34A показаны результаты определения IFN-гамма, а на Фиг. 35B показаны результаты определения TNF-альфа.

[0061] На Фиг. 36 показана аминокислотная последовательность высвобождающих сегмента RSR-1517 и расположение трех сайтов расщепления, где перечисленные протеазы способны расщеплять пептид.

[0062] На Фиг. 37 показаны результаты анализа на цитотоксичность в отношении huEp-CHO 4-12B, где в культуральной надосадочной жидкости определяли высвобождение каспазы 3/7, как описано в Примере 55.

[0063] На Фиг. 38 показаны результаты определения объема опухоли HCT-116 из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 13.

[0064] На Фиг. 39 показаны результаты определения массы тела для определения противоопухолевого эффекта ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в отношении HCT-116, как описано в Примере 13.

[0065] На Фиг. 40 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в SK-OV-3 с очищенными человеческими CD3-положительными Т-клетками, как описано в Примере 14.

[0066] На Фиг. 41 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами

ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в OVCAR-3 с очищенными человеческими CD3-положительными Т-клетками, как описано в Примере 14.

[0067] На Фиг. 42 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании PBMC и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 42A показана активация CD69 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 42B показана активация CD69 на CD4 клетках.

[0068] На Фиг. 43 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 и CD25 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании PBMC и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 43A показана активация CD69 и CD25 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 43B показана активация CD69 и CD25 на CD4 клетках.

[0069] На Фиг. 44 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании очищенных CD3+ клеток и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 44A показана активация CD69 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 44B показана активация CD69 на CD4 клетках.

[0070] На Фиг. 45 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 и CD25 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании очищенных CD3+ клеток и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 45A показана активация CD69 и CD25 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 45B показана активация CD69 и CD25 на CD4 клетках.

[0071] На Фиг. 46 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании очищенных CD3+ клеток и клеток OVCAR3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 46A показана активация CD69 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 46B показана активация CD69 на CD4 клетках.

[0072] На Фиг. 47 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 и CD25 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании очищенных CD3+ клеток и клеток OVCAR3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 47A показана активация CD69 и CD25 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 47B показана активация CD69 и CD25 на CD4 клетках.

[0073] На Фиг. 48 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании PBMC и клеток OVCAR3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 48A показана активация CD69 на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 48B показана активация CD69 на CD4 клетках.

[0074] На Фиг. 49 показаны результаты эксперимента для определения активации CD69 и гранзима B на CD8 и CD4 клетках при совместном культивировании PBMC и клеток OVCAR3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 8. На Фиг. 49A показана активация CD69 и гранзима B на CD8 клетках, тогда как на Фиг. 49B показана активация CD69 и гранзима B на CD4 клетках.

[0075] На Фиг. 50 показаны результаты эксперимента для определения высвобождения цитокинов IL-2 и IL-4 при совместном культивировании очищенных CD3+ клеток и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 15. На Фиг. 50A показана концентрация высвобожденного IL-2, тогда как на Фиг. 50B показана концентрация высвобожденного IL-4.

[0076] На Фиг. 51 показаны результаты эксперимента для определения высвобождения цитокинов IL-6 и IL-10 при совместном культивировании очищенных CD3+ клеток и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 15. На Фиг. 51A показана концентрация высвобожденного IL-6, тогда как на Фиг. 51B показана концентрация высвобожденного IL-10.

[0077] На Фиг. 52 показаны результаты эксперимента для определения высвобождения цитокинов TNF-альфа и IFN-гамма при совместном культивировании очищенных CD3+

клеток и клеток SK-OV-3 с обработанной протеазами, не обработанной протеазами и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 15. На Фиг. 52A показана концентрация высвобожденного TNF-альфа, тогда как на Фиг. 52B показана концентрация высвобожденного IFN-гамма.

[0078] На Фиг. 53 показаны кривые связывания обработанной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с лигандами CD3, как описано в Примере 16.

[0079] На Фиг. 54 показана специфичность связывания обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с лигандом rhEpCAM, как описано в Примере 17.

[0080] На Фиг. 55 показаны результаты определения объема опухоли SW480 из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 18.

[0081] На Фиг. 56 показаны результаты определения массы тела из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в отношении SW480, как описано в Примере 18.

[0082] На Фиг. 57 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в SK-OV-3 с человеческими PBMC, как описано в Примере 23.

[0083] На Фиг. 58 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в OVCAR3 с человеческими PBMC, как описано в Примере 23.

[0084] На Фиг. 59 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в HCT116 с человеческими PBMC, как описано в Примере 23.

[0085] На Фиг. 60 показаны результаты эксперимента для определения активности *in vitro* обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазами ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в SW480 с человеческими PBMC, как описано в Примере

23.

[0086] На Фиг. 61 показаны результаты определения объема опухоли HCT-116 из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта обработанной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, как описано в Примере 25.

[0087] На Фиг. 62 показаны уровни человеческого CA125 в контрольной группе 1, несущей OVCAR-3 и PBMC, группе 8, несущей только PBMC и группе 9, несущей только OVCAR-3, как описано в Примере 26.

[0088] На Фиг. 63 показаны уровни человеческого CA125 из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 2), не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 4) и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 6) в низких дозах, как описано в Примере 26.

[0089] На Фиг. 64 показаны уровни человеческого CA125 из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 3), не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 5) и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 7) в высоких дозах, как описано в Примере 26.

[0090] На Фиг. 65 показаны уровни человеческого CA125 из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, вводимого внутрибрюшинно или внутривенно мышам, несущим опухоль OVCAR-3, как описано в Примере 27.

[0091] На Фиг. 66 показан общий объем опухоли из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, вводимого внутрибрюшинно или внутривенно мышам, несущим опухоль OVCAR-3, как описано в Примере 27.

[0092] На Фиг. 67 показан общий объем опухоли из эксперимента для определения противоопухолевого эффекта не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в сравнении с бевацизумабом у мышей, несущих опухоль OVCAR-3, как описано в Примере 27.

[0093] На Фиг. 68 показано связывание вариантов не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с лигандом CD3эпсилон/дельта, как описано в Примере 28.

[0094] На Фиг. 69 показана фармакокинетика в плазме (Фиг. 69A) и в асците (Фиг. 69B) обработанной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, вводимого внутривенно, как описано в Примере 30.

[0095] На Фиг. 70 показана фармакокинетика в плазме (Фиг. 70A) и в асците (Фиг. 70B) обработанной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, вводимого внутрибрюшинно, как описано в Примере 30.

[0096] На Фиг. 71A-F показаны результаты определения цитокинов в образцах, полученных *in vivo,* для оценки токсичность интактных, расщепленных и нерасщепляемых конструкций ProTIA в сравнении с конструкциями в конфигурации BiTE, как описано в Примере 33.

[0097] На Фиг. 72 показаны результаты эксперимента для определения максимальной переносимой дозы интактной ProTIA по сравнению с расщепленной активированной формой, представленные в виде кривой Каплана-Мейера, как описано в Примере 34.

[0098] На Фиг. 73A-F показаны результаты эксперимента для определения максимальной переносимой дозы интактной ProTIA AC1553 по сравнению с расщепленной активированной формой, представленные в виде графика изменения во времени массы тела мышей, получавших введение, как описано в Примере 34.

[0099] На Фиг. 74 представлены гели SDS-PAGE с полученными вариантами высвобождающий сегмент-XTEN, согласно описанию в Примере 41. На Фиг. 74A показан анализ титров экспрессированных вариантов RS-XTEN. На Фиг. 74(B)-(D) показаны варианты RS-XTEN: AC1602, AC1609, AC1610, AC1604, AC1608, AC1611, AC1612, AC1649, AC1650 после одностадийной очистки методом IMAC. На Фиг. 74E представлен гель с выпущенными партиями очищенных вариантов RS-XTEN.

[00100] На Фиг. 75 показан гель SDS-PAGE, демонстрирующий профиль расщепления AC1611, подвергнутого действию семи протеаз человека, вовлеченных в рак, как описано в Примере 42.

[00101] На Фиг. 76 показан гель SDS-PAGE, демонстрирующий расщепление вариантов RS-XTEN с AC1611 в качестве эталонного, как описано в Примере 43.

[00102] На Фиг. 77 приведены результаты определения массы тела в группах, получавших плацебо и лечение, как описано в Примере 56.

[00103] На Фиг. 78 приведены результаты определения массы тела в группах, получавших лечение, как описано в Примере 57.

[00104] На Фиг. 79 приведены результаты определения объема опухоли в группах, получавших плацебо и лечение, как описано в Примере 60. На Фиг. 79A показаны результаты у животных, которым вводили 0,5 мг/кг, а на Фиг. 79B показаны результаты у животных, которым вводили 0,1 мг/кг.

[00105] На Фиг. 80 приведены результаты анализа перенаправленной клеточной цитотоксичности композиций необработанного протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA в сравнении с обработанным протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA и нерасщепляемым протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA, как описано в Примере 61. На Фиг. 80A показаны результаты исследования каспазы 3/7 *in vitro* после воздействия AC1955 и AC1958 на клетки HCT-116 в присутствии PBMC человека. На Фиг. 80B показаны результаты исследования каспазы 3/7 *in vitro* после воздействия AC1955 и AC1958 на клетки HT-29 в присутствии PBMC человека.

[00106] На Фиг. 81 приведены результаты анализа перенаправленной клеточной цитотоксичности композиций AC2038 и AC2040 необработанного протеазой анти-Her2 x анти-CD3 ProTIA в сравнении с обработанным протеазой анти-Her2 x анти-CD3 ProTIA и нерасщепляемым протеазой AC2039 при определении активности каспазы 3/7 апоптотических клеток в тесте *in vitro*, как описано в Примере 62. На Фиг. 81A показаны результаты для BT474 с PBMC человека. На Фиг. 81B показаны результаты для SK-OV-3 и PBMC человека. На Фиг. 81C показаны результаты для JIMT-1 с PBMC человека. На Фиг. 81D показаны результаты для MDA-MB-231 с PBMC человека.

[00107] На Фиг. 82 показаны результаты экспериментов *in vivo* для определения противоопухолевого эффекта обработанного протеазой и необработанного протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA в сравнении с цетуксимабом, как описано в Примере 63. На Фиг. 82A показаны результаты определения объема опухоли у животных с опухолевыми клетками HT-29. На Фиг. 82A показаны результаты определения массы тела животных с опухолевыми клетками HT-29.

[00108] На Фиг. 83 показаны результаты экспериментов *in vivo* для определения противоопухолевого эффекта обработанного протеазой и необработанного протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA на модели развившейся опухоли молочной железы, как описано в Примере 64. На Фиг. 83A показаны результаты определения объема опухоли у животных с опухолевыми клетками BT-474. На Фиг. 83B показаны результаты определения массы тела животных с опухолевыми клетками BT-474.

[00109] На Фиг. 84 показан анализ методом SDS-PAGE выпущенной партии лекарственной субстанции, как описано в Примере 46.

[00110] На Фиг. 85 показан анализ методом HPLC выпущенной партии лекарственной субстанции, как описано в Примере 46. На Фиг. 85A показаны результаты анализа методом SE-HPLC, а на Фиг. 85B показаны результаты анализа методом HI-HPLC.

[00111] На Фиг. 86 показан анализ выпущенной партии лекарственной субстанции, как описано в Примере 47. На Фиг. 86A показан анализ методом SDS-PAGE выпущенной партии лекарственной субстанции. На Фиг. 86B показан анализ методом ESI-MS выпущенной партии лекарственной субстанции.

[00112] На Фиг. 87 показан анализ методом HPLC выпущенной партии лекарственной субстанции, как описано в Примере 46. На Фиг. 87A показаны результаты анализа методом SE-HPLC, а на Фиг. 87B показаны результаты анализа методом HI-HPLC.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00113] Перед описанием воплощений изобретения следует упомянуть, что такие воплощения приведены только в качестве примера, и что при практическом применении изобретения могут использоваться различные альтернативы вариантам воплощений, описанным в данном документе. Специалистам в данной области техники будут очевидны многочисленные вариации, модификации и замены, не меняющие сути изобретения.

[00114] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют обычное значение, известное специалистам в области, к которой относится данное изобретение. Ниже приведены способы и вещества, подходящие для осуществления изобретения, однако для применения на практике или проверки изобретения можно применять способы и вещества, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе. В случае расхождений, следует руководствоваться описанием, приведенным в данном документе, включая терминологию. Кроме того, вещества, способы и примеры являются только иллюстративными, но не ограничивают изобретение. Специалистам в данной области техники будут очевидны многочисленные вариации, модификации и замены, не меняющие сути изобретения.

Определения

[00115] В контексте данной заявки следующие термины имеют значения, приписанные им, если не указано иное:

[00116] Используемые в описании и формуле изобретения термины в единственном числе используются в том смысле, что они означают «по меньшей мере один», «по меньшей мере первый», «один или несколько» или «множество» упомянутых компонентов или этапов, за исключением случаев, когда за ними указан верхний предел. Следовательно, «последовательность расщепления» в данном документе означает «по меньшей мере первую последовательность расщепления», но включает в себя множество последовательностей расщепления. Действующие пределы и параметры комбинаций, как и количества любого отдельного агента, будут известны специалистам в данной области в свете настоящего раскрытия.

[00117] Термины «полипептид», «пептид» и «белок» в данном документе используют взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты и прерываться не-аминокислотами. Термины также охватывают аминокислотный полимер, который был модифицирован, например, образованием дисульфидной связи, гликозилированием, липидированием, ацетилированием, фосфорилированием или любой другой манипуляцией, такой как конъюгирование с компонентом-меткой.

[00118] В данном документе «N-конец» (или «амино-конец») и «C-конец» (или «карбоксильный конец») применительно к структуре полипептида относятся к крайним амино- и карбоксильным концам полипептида, соответственно.

[00119] Термин «мономерный» применительно к полипептиду относится к состоянию полипептида как к единой непрерывной аминокислотной последовательности, по существу, не связанной с одним или несколькими дополнительными полипептидами той же или другой последовательности. Мономерное состояние полипептида можно установить с помощью эксклюзионной хроматографии как единый белковый объект одной молекулярной массы.

[00120] В данном описании термин «аминокислота» относится к аминокислотам естественного и/или искусственного или синтетического происхождения, включая как оптические изомеры D или L, так и аналоги аминокислот и пептидомиметики, но не ограничиваясь ими. Для обозначения аминокислот можно использовать стандартные однобуквенные или трехбуквенные коды.

[00121] Термин «L-аминокислота естественного происхождения» или «L-аминокислота»

означает L-оптические изомерные формы глицина (G), пролина (P), аланина (A), валина (V), лейцина (L), изолейцина (I), метионина (M), цистеина (C), фенилаланина (F), тирозина (Y), триптофана (W), гистидина (H), лизина (K), аргинина (R), глутамина (Q), аспарагина (N), глутаминовой кислоты (E), аспарагиновой кислоты (D), серина (S) и треонина (T).

[00122] Термин «не встречающийся в природе» применяющийся к последовательностям и используемый в данном документе, обозначает полипептидные или полинуклеотидные последовательности, которые не имеют аналога, не являются комплементарными или не обладают высокой степенью гомологии с последовательностью дикого типа или встречающейся в природе последовательностью, обнаруженной у млекопитающего. Например, не встречающийся в природе полипептид или фрагмент может иметь не более 99%, 98%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50% или даже меньше идентичных аминокислот с последовательностью естественного происхождения при надлежащем выравнивании.

[00123] Термины «гидрофильный» и «гидрофобный» относятся к степени сродства вещества к воде. Гидрофильное вещество обладает сильным сродством к воде, имеет тенденцию растворяться, смешиваться или смачиваться водой, в то время как гидрофобное вещество по существу не обладает сродством к воде, имеет тенденцию отталкивать и не впитывать воду и не растворяться или не смешиваться с водой или не смачиваться водой. Аминокислоты можно охарактеризовать по их гидрофобности. Разработан ряд шкал. Например, шкала, предложенная Levitt, M, et al., J Mol Biol (1976) 104:59, которая упомянута Hopp, TP, et al., Proc Natl Acad Sci U S A (1981) 78:3824. Примерами «гидрофильных аминокислот» являются аргинин, лизин, треонин, аланин, аспарагин и глутамин. Особый интерес представляют гидрофильные аминокислоты аспартат, глутамат и серин, а также глицин. Примерами «гидрофобных аминокислот» являются триптофан, тирозин, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин и валин.

[00124] «Фрагмент», применительно к биологически активному белку (а не к антителу), представляет собой усеченную форму биологически активного белка, которая сохраняет по меньшей мере часть терапевтической и/или биологической активности. «Вариант», применительно к биологически активному белку, представляет собой белок с последовательностью, гомологичной нативному биологически активному белку, который сохраняет по меньшей мере часть терапевтической и/или биологической активности биологически активного белка. Например, вариант белка может демонстрировать

идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% при сравнении с эталонным биологически активным белком. В данном описании термин «биологически активный вариант белка» включает в себя белки, модифицированные преднамеренно, например путем сайт-специфического мутагенеза, синтеза кодирующего гена, вставок или случайно в результате мутаций, которые сохраняют активность.

[00125] Термин «вариант последовательности» означает полипептиды, которые были модифицированы по сравнению с их нативными или исходными последовательностями посредством вставки, делеции или замены одной или более чем одной аминокислоты. Вставки могут быть расположены на одном или обоих концах белка и/или могут быть расположены во внутренних областях аминокислотной последовательности. Неограничивающим примером является замена аминокислоты в XTEN другой аминокислотой. В вариантах с делециями удалены один или несколько аминокислотных остатков в полипептиде, как описано в настоящем документе. Следовательно, варианты с делециями включают все фрагменты описанной полипептидной последовательности. В вариантах с заменами удалены один или несколько аминокислотных остатков полипептида и заменены альтернативными остатками. В одном аспекте замены являются консервативными по природе и консервативные замены такого типа хорошо известны в области техники. Применительно к антителу или биологически активному полипептиду вариант последовательности будет сохранять по меньшей мере часть аффинности связывания или биологической активности, соответственно, немодифицированного полипептида.

[00126] Термин «группировка» означает компонент большей композиции или предназначенный для включения в большую композицию, например, как белковая часть, присоединенная к более крупному полипептиду в виде непрерывной или состоящей из нескольких несмежных участков последовательности. Группировка может придавать большей композиции желаемую функциональность. Например, фрагмент антитела может сохранять способность связывать свой лиганд, но иметь меньший молекулярный размер и быть в одноцепочечном формате. XTEN может обеспечивать функциональность за счет увеличения молекулярной массы и/или периода полувыведения получающейся в результате большей композиции, с которой связан XTEN.

[00127] Термин «высвобождающий сегмент» или «RS» относится к пептиду с одним или

несколькими сайтами расщепления в последовательности, которые могут распознаваться и расщепляться одной или несколькими протеазами. Используемый в данном документе термин «протеаза млекопитающего» означает протеазу, которая обычно присутствует в жидкостях организма, клетках, тканях и может быть обнаружена в более высоких концентрациях в определенных тканях-мишенях или клетках-мишенях, например, в пораженных тканях (например, опухоли) млекопитающего. Последовательности RS могут быть сконструированы таким образом, чтобы расщепляться различными протеазами млекопитающих или множеством протеаз млекопитающих, которые присутствуют в тканях-мишенях субъекта или вблизи них или вводятся в анализ *in vitro*. Могут быть использованы другие эквивалентные протеазы (эндогенные или экзогенные), которые способны распознавать определенный сайт расщепления. В частности, предполагается, что последовательность RS может быть скорректирована и адаптирована к используемой протеазе и может включать линкерные аминокислоты для присоединения к соседним полипептидам композиции; например, связывающим группировкам и XTEN.

[00128] Термин «в составе», когда он относится к первому полипептиду, связанному со вторым полипептидом, охватывает присоединение или слияние дополнительного компонента, который соединяет N-конец первого или второго полипептида с C-концом второго или первого полипептида, соответственно, а также вставку первого полипептида в последовательность второго полипептида. Например, когда компонент RS связан «в составе» рекомбинантного полипептида, RS может быть связан с N-концом, C-концом или может быть вставлен между любыми двумя аминокислотами полипептида XTEN.

[00129] «Активность» применительно к форме (формам) композиции, представленной в настоящем документе, относится к действию или эффекту, включая связывание рецептора, антагонистическую активность, агонистическую активность, клеточный или физиологический ответ, лизис клеток, гибель клеток или эффект, общеизвестный в данной области для эффекторного компонента композиции, измеряемый с помощью анализа *in vitro, ex vivo* или *in vivo*, или клинический эффект, но не ограничивается перечисленным.

[00130] «Эффекторная клетка» в контексте настоящего описания включает любые эукариотические клетки, способные оказывать воздействие на клетку-мишень. Например, эффекторная клетка может вызывать нарушение целостности мембраны, пикноз, кариорексис, апоптоз, лизис и/или гибель клетки-мишени. В другом примере эффекторная клетка может индуцировать деление, рост, дифференцировку клетки-

мишени или изменять передачу сигнала клетки-мишени. Неограничивающие примеры эффекторных клеток включают плазматическую клетку, Т-клетку, CD4-клетку, CD8-клетку, В-клетку, цитокин-индуцированную киллерную клетку (CIK-клетку), тучную клетку, дендритную клетку, регуляторную Т-клетку (RegT-клетку), хелперную Т-клетку, миелоидную клетку, макрофаг и NK-клетку.

[00131] «Антиген эффекторной клетки» относится к молекулам, экспрессируемым эффекторной клеткой, включая молекулы клеточной поверхности, такие как белки, гликопротеины или липопротеины, без ограничения. Типичные антигены эффекторных клеток включают белки комплекса CD3 или Т-клеточного рецептора (TCR), CD4, CD8, CD25, CD38, CD69, CD45RO, CD57, CD95, CD107 и CD154, а также эффекторные молекулы, такие как цитокины, ассоциированные, связанные, экспрессирующиеся внутри или экспрессирующиеся и высвобождающиеся эффекторной клеткой. Антиген эффекторных клеток может служить партнером по связыванию для связывающей группировки рассматриваемого рекомбинантного полипептида. Неограничивающие примеры антигенов эффекторных клеток, с которыми может связываться рассматриваемая композиция, включают антигены клеточной поверхности, такие как CD3, CD4, CD8, CD25, CD38, CD69, CD45RO, CD57, CD95, CD107 и CD154, а также цитокины Th1, выбранные из IL2, IL10, IL12, IFN-гамма и TNF-альфа.

[00132] Используемый в данном документе термин «ELISA» относится к иммуноферментному анализу, как описано в данном документе или известно в данной области техники.

[00133] «Клетка-хозяин» включает отдельную клетку или клеточную культуру, которая может быть или была реципиентом для рассматриваемых векторов, в которые была внедрена экзогенная нуклеиновая кислота, таких как описаны в данном документе. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина. Потомство необязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или по геномному составу общей ДНК) исходной родительской клетке вследствие естественной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* вектором по настоящему изобретению.

[00134] Термин «выделенный», используемый для описания различных полипептидов, раскрытых в данном документе, означает полипептид, который был идентифицирован и отделен и/или извлечен из компонента его естественного окружения или из более сложной

смеси (например, в ходе очистки белка). Загрязняющие компоненты его естественного окружения представляют собой вещества, которые обычно мешают диагностическому или терапевтическому применению полипептида и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. Специалистам в данной области техники очевидно, что не встречающийся в природе полинуклеотид, пептид, полипептид, белок, антитело или их фрагменты не требуют «выделения», чтобы отличать их от встречающегося в природе аналога. Кроме того, «концентрированный», «отделенный» или «разбавленный» полинуклеотид, пептид, полипептид, белок, антитело или их фрагменты отличаются от их встречающихся в природе аналогов тем, что концентрация или количество молекул на объем обычно больше, чем у его естественного аналога. В целом, полипептид, полученный рекомбинантным способом и экспрессированный в клетке-хозяине, считается «выделенным».

[00135] «Выделенная нуклеиновая кислота» представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицирована и отделена по меньшей мере от одной контаминирующей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в природном источнике кодирующей полипептид нуклеиновой кислоты. Например, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая выделенный полипептид, отличается от той формы или организации, в которой она встречается в природе. Следовательно, выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептид, отличаются от конкретной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, существующей в естественных клетках. Однако, выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид, включает молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептид, содержащиеся в клетках, которые обычно экспрессируют полипептид, где, например, молекула нуклеиновой кислоты находится в участке хромосомы или внехромосомной локализации, отличных от таковых в природных клетках.

[00136] «Химерный» белок или полипептид содержит по меньшей мере один слитый полипептид, содержащий по меньшей мере один участок в ином положении последовательности, нежели встречающийся в природе. Участки могут обычно существовать в отдельных белках и объединяются вместе в слитом полипептиде; или они обычно могут существовать в одном и том же белке, но помещаются в новое положение в слитом полипептиде. Химерный белок может быть получен, например, химическим синтезом или путем создания и трансляции рекомбинантного полинуклеотида, в котором

участки пептида кодируются в желаемой взаимосвязи.

[00137] «Слитый» и «слияние» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к объединению двух или более пептидных или полипептидных последовательностей рекомбинантными способами. «Слитый белок» или «химерный белок» содержит первую аминокислотную последовательность, связанную со второй аминокислотной последовательностью, с которой он не связан естественным образом в природе.

[00138] «Нерасщепленный» и «нерасщепленное состояние» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к полипептиду, который не был расщеплен или разрезан протеазой, так что полипептид остается интактным.

[00139] «XTEN-илированный» используется для обозначения пептида или полипептида, который был модифицирован путем связывания или слияния одного или более чем одного полипептида XTEN (описанного ниже) с пептидом или полипептидом, будь то с помощью рекомбинантных или химических способов сшивания.

[00140] «Функционально связанный» означает, что соединяемые последовательности ДНК являются смежными и находятся в фазе или в рамке считывания. «Слияние в рамке считывания» относится к объединению двух или более открытых рамок считывания (ORF), с образованием непрерывной более длинной ORF, таким образом, чтобы сохранялась правильная рамка считывания исходных ORF. Например, промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью полипептида, если он влияет на транскрипцию полипептидной последовательности. Таким образом, полученный рекомбинантный слитый белок представляет собой единый белок, содержащий два или более сегмента, которые соответствуют полипептидам, кодируемым исходными ORF (эти сегменты, как правило, не соединены таким образом в природе).

[00141] «Сшивание» и «конъюгирование» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к ковалентному связыванию двух разных молекул посредством химической реакции. Сшивание может происходить в одной или нескольких химических реакциях, как известно в данной области техники.

[00142] Применительно к полипептидам «линейная последовательность» или «последовательность» представляет собой порядок аминокислот в направлении от амино-конца к карбоксильному концу (от N- к C-концу) полипептида, где остатки, расположенные в последовательности по соседству друг с другом, являются смежными в

первичной структуре полипептида. «Частичная последовательность» представляет собой линейную последовательность части полипептида, которая, как известно, содержит дополнительные остатки в одном или обоих направлениях.

[00143] «Гетерологичный» означает происходящий из объекта, генотипически отличающегося от остальной части объекта, с которым его сравнивают. Например, богатая глицином последовательность, удаленная из ее нативной кодирующей последовательности и функционально связанная с кодирующей последовательностью, отличной от нативной последовательности, представляет собой гетерологичную последовательность, богатую глицином. Термин «гетерологичный» применительно к полинуклеотиду, полипептиду, означает, что полинуклеотид или полипептид происходят из объекта, генотипически отличающегося от остальной части объекта, с которым его сравнивают.

[00144] Термины «полинуклеотиды», «нуклеиновые кислоты», «нуклеотиды» и «олигонуклеотиды» используются взаимозаменяемо. Они относятся к нуклеотидам любой длины, включая единственную нуклеиновую кислоту, а также множество нуклеиновых кислот, как дезоксирибонуклеотиды, так и рибонуклеотиды или их аналоги. Полинуклеотиды могут иметь любую трехмерную структуру и могут выполнять любую функцию, известную или неизвестную. Ниже приведены неограничивающие примеры полинуклеотидов: кодирующие или некодирующие области гена или фрагмента гена, локусы (локус), определенные из анализа сцепления, экзоны, интроны, матричная РНК (мРНК), транспортная РНК, рибосомная РНК, рибозимы, кДНК (комплементарная ДНК), рекомбинантные полинуклеотиды, разветвленные полинуклеотиды, плазмиды, векторы, выделенная ДНК любой последовательности, выделенная РНК любой последовательности, нуклеиновокислотные зонды и праймеры. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Если они присутствуют, модификации нуклеотидной структуры могут быть внесены до или после сборки полимера. Последовательность нуклеотидов может быть прервана ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид может быть дополнительно модифицирован после полимеризации, например путем конъюгирования с компонентом-меткой.

[00145] Термин «комплемент полинуклеотида» обозначает молекулу полинуклеотида, имеющую комплементарную последовательность оснований и обратную ориентацию по

сравнению с эталонной последовательностью, так что она может гибридизоваться с эталонной последовательностью с абсолютной точностью.

[00146] «Рекомбинантный» применительно к полинуклеотиду означает, что полинуклеотид является продуктом различных комбинаций стадий рекомбинации, которые могут включать стадии клонирования, рестрикции и/или лигирования, и другие процедуры, которые приводят к экспрессии рекомбинантного белка в клетке-хозяине.

[00147] Термины «ген» и «фрагмент гена» используются в данном документе взаимозаменяемо. Они относятся к полинуклеотиду, содержащему по меньшей мере одну открытую рамку считывания, которая способна кодировать конкретный белок после транскрибирования и трансляции. Ген или фрагмент гена может быть геномным или кДНК, при условии, что полинуклеотид содержит по меньшей мере одну открытую рамку считывания, которая может охватывать всю кодирующую область или ее сегмент. «Слитый ген» представляет собой ген, состоящий по меньшей мере из двух гетерологичных полинуклеотидов, которые связаны друг с другом.

[00148] Используемый в данном документе термин «кодирующая область» или «кодирующая последовательность» представляет собой часть полинуклеотида, которая состоит из кодонов, транслируемых в аминокислоты. Хотя «стоп-кодон» (TAG, TGA или TAA) обычно не транслируется в аминокислоту, его можно рассматривать как часть кодирующей области, но любые фланкирующие последовательности, например, промоторы, сайты связывания рибосом, терминаторы транскрипции, интроны и тому подобное не являются частью кодирующей области. Границы кодирующей области обычно определяются стартовым кодоном на 5'-конце, кодирующим амино-конец получаемого полипептида, и стоп-кодоном на 3'-конце, кодирующим карбоксильный конец получаемого полипептида. Две или более кодирующих областей по настоящему изобретению могут присутствовать в одной полинуклеотидной конструкции, например, в одном векторе или в отдельных полинуклеотидных конструкциях, например, в отдельных (разных) векторах. Из этого следует, что один вектор может содержать только одну кодирующую область или содержать две или более кодирующих области, например, один вектор может отдельно кодировать связывающую группировку-А и связывающую группировку-В, как описано ниже. Кроме того, вектор, полинуклеотид или нуклеиновая кислота по настоящему изобретению могут кодировать гетерологичные кодирующие области, либо слитые, либо не слитые с нуклеиновой кислотой, кодирующей

связывающую группировку по настоящему изобретению. Гетерологичные кодирующие области включают, без ограничения, специализированные элементы или мотивы, такие как сигнальный пептид, обеспечивающий секрецию, или гетерологичный функциональный домен.

[00149] Термин «по ходу транскрипции» относится к нуклеотидной последовательности, которая расположена в 3'-направлении относительно эталонной нуклеотидной последовательности. В некоторых воплощениях расположенные по ходу транскрипции нуклеотидные последовательности относятся к последовательностям, которые следуют за точкой инициации транскрипции. Например, кодон инициации трансляции гена расположен в направлении по ходу транскрипции от сайта инициации транскрипции.

[00150] Термин «против хода транскрипции» относится к нуклеотидной последовательности, которая расположена в 5'-направлении относительно эталонной нуклеотидной последовательности. В некоторых воплощениях нуклеотидные последовательности, расположенные против хода транскрипции, относятся к последовательностям, которые расположены на 5'-стороне кодирующей области от точки инициации транскрипции. Например, большинство промоторов расположены в направлении против хода транскрипции от сайта инициации транскрипции.

[00151] «Гомология» или «гомологичность» или «идентичность» взаимозаменяемо означают сходство между последовательностями двух или более полинуклеотидов или между последовательностями двух или более полипептидов. При использовании программы, такой как BestFit, для определения идентичности последовательности, сходства или гомологии между двумя различными аминокислотными последовательностями, могут использоваться настройки по умолчанию или может быть выбрана подходящая матрица весов выравнивания, такая как blosum45 или blosum80, для оптимизации оценки идентичности, сходства или гомологии. Предпочтительно, гомологичные полинуклеотиды гибридизуются в строгих условиях, как определено в настоящем документе, и имеют последовательности, идентичные по меньшей мере на 70%, предпочтительно по меньшей мере на 80%, более предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно на 95%, более предпочтительно на 97%, более предпочтительно на 98% и еще более предпочтительно на 99% при оптимальном выравнивании. Полипептиды, которые являются гомологичными, предпочтительно имеют идентичность последовательностей, которая составляет по меньшей мере 70%,

предпочтительно по меньшей мере 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере 95-99% при оптимальном выравнивании последовательностей сопоставимой длины.

[00152] «Лигирование» применительно к полинуклеиновым кислотам относится к процессу образования фосфодиэфирных связей между двумя фрагментами нуклеиновых кислот или генами, что связывает их вместе. Для лигирования фрагментов ДНК или генов, концы ДНК должны быть совместимы друг с другом. В некоторых случаях концы будут непосредственно совместимы после расщепления эндонуклеазой. Однако может потребоваться сначала преобразовать «липкие концы», обычно образующиеся после расщепления эндонуклеазой, в «тупые концы», чтобы сделать их совместимыми для лигирования.

[00153] Термины «строгие условия» или «строгие условия гибридизации» включают ссылку на условия, при которых полинуклеотид будет гибридизоваться с его последовательностью-мишенью, в заметно большей степени, чем другие последовательности (например, по меньшей мере в 2 раза по сравнению с фоном). Как правило, жесткость гибридизации выражается частично со ссылкой на температуру и концентрацию соли, при которой проводится стадия отмывки. Как правило, строгие условия будут такими, в которых концентрация соли составляет менее чем приблизительно 1,5 М ионов Na, обычно приблизительно 0,01-1,0 М ионов Na (или других солей) при pH 7,0-8,3, и температура составляет по меньшей мере приблизительно 30° С для коротких полинуклеотидов (например, от 10 до 50 нуклеотидов) и по меньшей мере около 60° С для длинных полинуклеотидов (например, более 50 нуклеотидов): например, «строгие условия» могут включать гибридизацию в 50% формамиде, 1 М NaCl, 1 % SDS при 37° С и три отмывки в 0,1 × SSC/1% SDS при 60-65° С по 15 мин каждая. В качестве альтернативы можно использовать температуры около 65° С, 60° С, 55° С или 42° С. Концентрация SSC может варьироваться от примерно 0,1 до 2xSSC, при этом SDS присутствует в концентрации примерно 0,1%. Такие температуры отмывки обычно выбирают так, чтобы они были примерно на 5-20° С ниже, чем температура плавления для конкретной последовательности при определенной ионной силе и pH. Tm - это температура (при определенной ионной силе и pH), при которой 50% последовательности-мишени гибридизуется с абсолютно совпадающим зондом. Уравнение для расчета Tm и условий для гибридизации нуклеиновых кислот хорошо известно и может быть найдено в

Sambrook, J. *et al.*, “Molecular Cloning: A Laboratory Manual,” 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. Как правило, для блокирования неспецифической гибридизации применяют блокирующие реагенты. Такие блокирующие реагенты включают, например, фрагментированную в результате гидродинамического сдвига и денатурированную ДНК спермы лосося в концентрации примерно 100-200 мкг/мл. При определенных условиях, например, при гибридизации РНК:ДНК также можно применять органический растворитель, такой как формамид в концентрации около 35-50% об./об. Для специалистов в данной области техники будут очевидны полезные изменения этих условий отмывки.

[00154] Термины «процент идентичности», «процент идентичности последовательности» и «% идентичности» применительно к полинуклеотидным последовательностям относятся к проценту совпадающих остатков между по меньшей мере двумя полинуклеотидными последовательностями, выровненными с использованием стандартизированного алгоритма. Такой алгоритм может стандартизированным и воспроизводимым образом вставлять пропуски в сравниваемые последовательности, чтобы оптимизировать выравнивание между двумя последовательностями и, следовательно, получать сравнение двух последовательностей, имеющее больший смысл. Можно определять процент идентичности по всей длине определенной полинуклеотидной последовательности или можно определять его на более коротком протяжении, например, по длине фрагмента, взятого из большей определенной полинуклеотидной последовательности, например, фрагмента, по меньшей мере из 45, по меньшей мере из 60, по меньшей мере из 90, по меньшей мере из 120, по меньшей мере из 150, по меньшей мере из 210 или, по меньшей мере из 450 смежных остатков. Такие длины являются только примерами, и подразумевается, что для описания длины, по которой может измеряться процентная идентичность, может использоваться любая длина фрагмента, подкрепляемая последовательностями, приведенными в таблицах, рисунках или в перечне последовательностей. Процент идентичности последовательностей рассчитывают путем сравнения двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения, определения количества совпадающих положений (в которых в обеих полипептидных последовательностях находятся одинаковые остатки), деления количества совпадающих положений на общее количество положений в окно сравнения (т.е. размер окна) и умножения результата на 100, чтобы получить процент идентичности последовательности.

Когда необходимо сравнить последовательности различной длины, длину окна сравнения определяет самая короткая последовательность. При расчете идентичности последовательности консервативные замены не учитываются.

[00155] «Процент (%) идентичности последовательности» и «процент (%) идентичности» применительно к полипептидным последовательностям, указанным в данном документе, определяют как процент аминокислотных остатков в последовательности запроса, которые идентичны аминокислотным остаткам второй, эталонной полипептидной последовательности сопоставимой длины или ее части, после выравнивания последовательностей и введения пробелов, если это необходимо для достижения максимального процента идентичности последовательности и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности, с достижением оптимального выравнивания. Выравнивание для определения процента идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществлять различными способами, которые известны специалисту в данной области, например, с использованием общедоступных компьютерных программ, таких как программы BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалист в данной области может определить подходящие параметры для выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения оптимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Процент идентичности можно определять по всей длине определенной полипептидной последовательности или можно определять на более коротком протяжении, например, по длине фрагмента, взятого из большей определенной полипептидной последовательности, например, фрагмента, по меньшей мере из 15, по меньшей мере из 20, по меньшей мере из 30, по меньшей мере из 40, по меньшей мере из 50, по меньшей мере из 70 или, по меньшей мере из 150 смежных остатков. Такие длины являются только примерами, и подразумевается, что для описания длины, по которой можно определять процент идентичности, может использоваться любая длина фрагмента, подкрепляемая последовательностями, приведенными в таблицах, рисунках или в перечне последовательностей.

[00156] «Повторяемость», при использовании в контексте полинуклеотидных последовательностей, относится к степени внутренней гомологии в последовательности, такой как, например, частота встречаемости идентичных нуклеотидных последовательностей заданной длины. Повторяемость может, например, быть измерена

путем анализа частоты встречаемости идентичных последовательностей.

[00157] Используемый в данном документе термин «экспрессия» относится к процессу, в ходе которого полинуклеотид продуцирует генный продукт, например, РНК или полипептид. Она включает в себя, без ограничения, транскрипцию полинуклеотида в матричную РНК (мРНК), транспортную РНК (тРНК), короткую шпилечную РНК (кшРНК), малую интерферирующую РНК (миРНК) или любой другой РНК-продукт и трансляцию мРНК в полипептид. В результате экспрессии образуется «генный продукт». В данном описании генный продукт может представлять собой либо нуклеиновую кислоту, например, матричную РНК, полученную путем транскрипции гена, либо полипептид, который транслируется из транскрипта. Генные продукты, описанные в данном документе, дополнительно включают нуклеиновые кислоты с посттранскрипционными модификациями, например, полиаденилированием или сплайсингом, или полипептиды с посттрансляционными модификациями, например, метилированием, гликозилированием, добавлением липидов, ассоциацией с другими белковыми субъединицами или протеолитическим расщеплением.

[00158] «Вектор» или «вектор экспрессии» используются взаимозаменяемо и относятся к молекуле нуклеиновой кислоты, предпочтительно самореплицирующейся в соответствующем хозяине, которая переносит встроенную молекулу нуклеиновой кислоты в клетки-хозяева и/или между клетками-хозяевами. Термин включает векторы, которые функционируют главным образом для встраивания ДНК или РНК в клетку, реплицирующие векторы, которые функционируют главным образом для репликации ДНК или РНК, и векторы экспрессии, которые функционируют для транскрипции и/или трансляции ДНК или РНК. Также включены векторы, которые обеспечивают более одной из вышеуказанных функций. «Вектор экспрессии» представляет собой полинуклеотид, который при введении в подходящую клетку-хозяина может транскрибироваться и транслироваться в полипептид(ы). «Система экспрессии» обычно означает подходящую клетку-хозяина, содержащую вектор экспрессии, которая может функционировать, чтобы образовался желаемый продукт экспрессии.

[00159] «Устойчивость к деградации в сыворотке» применительно к полипептиду относится к способности полипептидов противостоять деградации в крови или ее компонентах, что обычно подразумевает протеазы в сыворотке или плазме. Устойчивость к деградации в сыворотке можно измерить путем объединения белка с сывороткой или

плазмой человека (или мыши, крысы, собаки, обезьяны, сообразно требованиям), как правило, в течение ряда суток (например, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 суток), обычно при температуре приблизительно 37°C. В указанные моменты времени можно проанализировать образцы с помощью вестерн-блоттинга и определить белок с помощью антитела. Антитело может быть к метке в белке. Если при вестерн-блоттинге белка видна одна полоса, причем размер белка идентичен размеру введенного белка, то деградации не произошло. В этом иллюстративном способе момент времени, когда 50% белка деградировано, судя по результатам вестерн-блоттинга или эквивалентных методов, представляет собой период полураспада в сыворотке или «период полувыведения в сыворотке» белка.

[00160] Термины «$t_{1/2}$», «период полувыведения», «конечный период полувыведения», «период полуэлиминации» и «период полувыведения в циркуляции» используются в данном документе взаимозаменяемо и означают конечный период полувыведения, рассчитываемый как $\ln(2)/K_{el}$. K_{el} - константа скорости элиминации для конечной фазы, которую определяют, представив зависимость концентрации вещества от времени в полулогарифмической системе координат, чтобы зависимость приобрела линейный характер, и рассчитывают отношение дифференциалов логарифма концентрации и времени. Период полувыведения, как правило, относится ко времени, необходимому для того, чтобы половина количества вводимого вещества, поступившего в живой организм, была метаболизирована или выведена вследствие нормальных биологических процессов. Когда кривая клиренса данного полипептида строится в виде зависимости от времени, кривая обычно бывает двухфазной с быстрой α-фазой и более длительной бета-фазой. Типичный период полувыведения человеческого антитела в бета-фазе в организме человека составляет 21 сутки. Период полувыведения можно измерять с использованием образцов любой жидкости организма, взятых в определенные моменты времени, но чаще всего для измерений используют образцы плазмы.

[00161] Термин «молекулярная масса» обычно относится к сумме атомных масс атомов, составляющих молекулу. Молекулярную массу можно определять теоретически путем суммирования атомных масс атомов, составляющих молекулу. В случае полипептида, молекулярную массу рассчитывают на основе аминокислотного состава, путем суммирования молекулярных масс аминокислот каждого типа в составе композиции или путем оценки при сравнении со стандартами молекулярной массы при электрофорезе в

геле в присутствии SDS. Рассчитанная молекулярная масса молекулы может отличаться от кажущейся молекулярной массы молекулы, которая обычно относится к молекулярной массе молекулы, определенной одним или несколькими аналитическими методами. «Коэффициент кажущейся молекулярной массы» и «кажущаяся молекулярная масса» являются родственными терминами, и когда они используются применительно к полипептиду, эти термины относятся к показателю относительного увеличения или уменьшения кажущейся молекулярной массы определенной аминокислотной или полипептидной последовательности. Кажущуюся молекулярную массу можно определить, например, с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC) или аналогичных методов путем сравнения с глобулярными белками известной молекулярной массы, используемыми в качестве стандартов, выражая в единицах «кажущихся kD». Коэффициент кажущейся молекулярной массы представляет собой отношение кажущейся молекулярной массы к «молекулярной массе»; последняя рассчитывается на основе аминокислотного состава, как описано выше, путем суммирования, или путем оценки при сравнении со стандартами молекулярной массы при электрофорезе в геле в присутствии SDS. Определение кажущейся молекулярной массы и коэффициента кажущейся молекулярной массы описано в патенте US 8673860.

[00162] Термины «гидродинамический радиус» или «радиус Стокса» - это эффективный радиус молекулы (R_h в нм) в растворе, рассчитанный исходя из предположения, что это тело движется через раствор и испытывает сопротивление вследствие вязкости раствора. В воплощениях настоящего изобретения измерения гидродинамический радиус полипептидов XTEN коррелируют с «коэффициентом кажущейся молекулярной массы», который является более интуитивно понятной мерой. «Гидродинамический радиус» белка влияет на скорость его диффузии в водном растворе, а также на его способность мигрировать в гелях макромолекул. Гидродинамический радиус белка определяется его молекулярной массой, а также его структурой, включая форму и компактность. Методы определения гидродинамического радиуса хорошо известны в данной области техники, например, с использованием эксклюзионной хроматографии (SEC), как описано в патентах US 6406322 и 7294133. Большинство белков имеют глобулярную структуру, которая является самой компактной трехмерной структурой, которую может иметь белок с наименьшим гидродинамическим радиусом. Некоторые белки принимают случайную и открытую, неструктурированную или «линейную» конформацию и в результате имеют

гораздо больший гидродинамический радиус по сравнению с типичными глобулярными белками такой же молекулярной массы.

[00163] «Коэффициент диффузии» означает количество вещества (в молях), проходящего в единицу времени через единицу площади при градиенте концентрации, равном единице. При транспорте частиц в растворе поток вследствие диффузии определяется первым законом Фика, который зависит только от одного свойства взаимодействия растворенного вещества с растворителем: коэффициента диффузии.

[00164] «Физиологические условия» относятся к ряду условий в живом организме, а также к условиям *in vitro*, включая температуру, концентрацию соли, pH, которые имитируют эти условия живого объекта. Установлено множество условий для применения в анализах *in vitro*, соответствующих физиологическим условиям. Как правило, физиологический буфер содержит соль в физиологической концентрации и доводится до нейтрального значения pH, варьирующего от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,8 и предпочтительно от приблизительно 7,0 до приблизительно 7,5. Разнообразные физиологические буферы перечислены в Sambrook et al. (2001). Температура, соответствующая физиологической, варьирует от приблизительно 25°C до приблизительно 38°C и предпочтительно от приблизительно 35°C до приблизительно 37°C.

[00165] Термин «связывающая группировка» используется в данном документе в самом широком смысле и включает категории цитокинов, клеточных рецепторов, антител или фрагментов антител, которые обладают специфической аффинностью к антигену или лиганду, такому как рецепторы клеточной поверхности, маркеры клеток-мишеней или антигены или гликопротеины, олигонуклеотиды, субстраты ферментов, антигенные детерминанты или сайты связывания, которые могут присутствовать в ткани или клетке или на поверхности ткани или клетки.

[00166] Термин «антитело» используется в данном документе в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, при условии, что они демонстрируют желаемую антигенсвязывающую активность, но не ограничиваются ими. Полноразмерные антитела могут быть, например, моноклональными, рекомбинантными, химерными, деиммунизированными, гуманизированными и человеческими антителами.

[00167] Термин «моноклональное антитело» в контексте настоящего описания относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, то есть отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными и/или связываются с одним и тем же эпитопом, за исключением возможных вариантов антител, например, содержащих мутации, возникающие естественным путем или возникающие во время получения препарата моноклонального антитела, такие варианты обычно присутствуют в небольших количествах. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело препарата моноклональных антител направлено против одной детерминанты на антигене. Таким образом, прилагательное «моноклональный» указывает на характер антитела, получаемого из по существу гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как необходимость получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела для применения в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены различными способами, включая гибридомный метод, методы рекомбинирования ДНК, методы фагового дисплея и методы с применением трансгенных животных, содержащих все или часть локусов иммуноглобулина человека, но не ограничиваясь ими, такие методы и другие типичные способы получения моноклональных антител известны в области техники или описаны в данном документе.

[00168] «Фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела и которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')2, диатела, одноцепочечные диатела, линейные антитела, однодоменное антитело, однодоменное верблюжье антитело, молекулы одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv) и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антитела, но не ограничиваются ими.

[00169] Термины «scFv» или «одноцепочечный вариабельный фрагмент» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения формата фрагмента антитела, содержащего вариабельную область тяжелой цепи («VH») и вариабельную область легкой цепи («VL») или две копии цепи VH или VL, которые соединены коротким гибким пептидным линкером. scFv не является фрагментом антитела в прямом смысле, но представляет собой слитый белок из вариабельных областей тяжелой (VH) и легкой цепей

(VL) иммуноглобулина и может быть легко экспрессирован в функциональной форме в *E.coli* как в N-, так и в C-концевой ориентации; VL-VH или VH-VL.

[00170] Термины «антиген», «целевой клеточный маркер» и «лиганд» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения структуры или связывающей детерминанты, с которой связывается или к которой имеет связывающую детерминанту связывающая группировка, антитело, фрагмент антитела или молекула на основе фрагмента антитела.

[00171] Термин «эпитоп» относится к конкретному сайту на молекуле антигена, с которым связывается антитело, фрагмент антитела или связывающая группировка. Эпитоп представляет собой лиганд антитела, фрагмента антитела или связывающей группировки.

[00172] Используемый здесь термин «CD3» или «кластер дифференцировки 3» означает комплекс поверхностного антигена Т-клеток CD3, который включает все известные субъединицы CD3, например, CD3-эпсилон, CD3-дельта, CD3-гамма, CD3-дзета, CD3 альфа и CD3 бета, как в отдельном виде, так и скомбинированные независимо друг от друга. Внеклеточные домены CD3 эпсилон, гамма и дельта содержат иммуноглобулин-подобный домен, поэтому считаются частью суперсемейства иммуноглобулинов.

[00173] Термины «специфическое связывание» или «специфически связывать» или «специфичность связывания» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения высокой степени аффинности связывания связывающей группировки с его соответствующей мишенью. Как правило, специфическое связывание, определенное с помощью одного или нескольких описанных в данном документе анализов, будет выражаться константой диссоциации или $K_{d\ менее}$ чем приблизительно 10^{-6} М; например, 10^{-7} М - 10^{-12} М.

[00174] «Аффинность» относится к силе общей суммы нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антитела) и его партнером по связыванию (например, антигеном). Если не указано иное, в данном документе «аффинность связывания» относится к внутренней аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами связывающейся пары (например, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлена константой диссоциации (K_d). Используемый в данном документе термин «большая аффинность связывания» или «повышенная аффинность связывания» означает более

низкое значение K_d; например, 1×10^{-9} М является более высокой аффинностью связывания, чем 1×10^{-8} М, тогда как «более низкая аффинность связывания» означает большее значение K_d; например, 1×10^{-7} М является более низкой аффинностью связывания, чем 1×10^{-8} М.

[00175] Термины «константа ингибирования» и «K_i» используются взаимозаменяемо и означают константу диссоциации комплекса фермент-ингибитор или величину, обратную аффинности связывания ингибитора с ферментом.

[00176] Термины «константа диссоциации» и «K_d» используются взаимозаменяемо и означают аффинность между лигандом «L» и белком «P»; то есть насколько тесно лиганд связывается с конкретным белком. Ее можно рассчитать по формуле $K_d = [L][P]/[LP]$, где [P], [L] и [LP] представляют молярные концентрации белка, лиганда и комплекса соответственно. Используемый в данном документе термин «k_{on}» предназначен для обозначения константы скорости ассоциации антитела с антигеном с образованием комплекса антитело/антиген, как известно в данной области. Используемый в данном документе термин «k_{off}» предназначен для обозначения константы скорости диссоциации антитела от комплекса антитело/антиген, как известно в данной области. Для обнаружения событий связывания можно использовать такие методы, как проточная цитометрия или поверхностный плазмонный резонанс. Анализы могут включать растворимые антигены или молекулы рецепторов или могут определять связывание с рецепторами, которые экспрессируются клетками. Такие анализы могут включать анализы с применением клеток, включая анализы на пролиферацию, гибель клеток, апоптоз и миграцию клеток. Аффинность связывания рассматриваемых композиций с лигандами-мишенями можно анализировать, используя анализы связывания или конкурентного связывания, такие как анализы на биосенсоре Biacore, в которых на чипе иммобилизуют рецепторы или связывающие белки, или анализы ELISA, описанные в патенте US 5534617, анализы, описанные в приведенных здесь Примерах, радиорецепторный анализ или другие анализы, известные в данной области техники. Затем можно определить константу аффинности связывания, используя стандартные способы, такие как анализ Скэтчарда, как описано van Zoelen, et al., Trends Pharmacol Sciences (1998) 19)12):487, или другие способы, известные в данной области.

[00177] Используемый в данном документе термин «антагонист» включает любую молекулу, которая частично или полностью блокирует, ингибирует или нейтрализует

биологическую активность нативного полипептида, раскрытого в данном документе. Способы идентификации антагонистов полипептида могут включать приведение в контакт нативного полипептида с антагонистической молекулой-кандидатом и измерение выявляемого изменения одной или нескольких биологических активностей, присущих нативному полипептиду. В контексте данного описания антагонисты могут включать белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, антитела или любые другие молекулы, которые уменьшают действие биологически активного белка.

[00178] «Целевой клеточный маркер» относится к молекуле, экспрессируемой клеткой-мишенью, включая рецепторы клеточной поверхности, рецепторы цитокинов, антигены, опухолеассоциированные антигены, гликопротеины, олигонуклеотиды, субстраты ферментов, антигенные детерминанты или сайты связывания, которые могут присутствовать на поверхности ткани или клетки-мишени, которые могут служить в качестве лигандов для связывающей группировки, без ограничения. Неограничивающие примеры маркеров клеток-мишеней включают маркеры-мишени, приведенные в Таблице 5.

[00179] «Ткань-мишень» относится к ткани, которая является причиной или является частью заболевания, такого как рак или воспалительные состояния, но не ограничиваясь ими. Источники пораженной ткани-мишени включают орган тела, опухоль, опухолевые клетки или популяцию опухолевых клеток или клеток, которые образуют матрикс или обнаруживаются ассоциированными с популяцией опухолевых клеток, кости, кожу, клетки, которые продуцируют цитокины или факторы, способствующие развитию патологического состояния.

[00180] «Среда определенного состава» относится к среде, содержащей питательные элементы и гормоны, необходимые для выживания и/или роста клеток в культуре, при этом компоненты среды известны. Традиционно среду определенного состава получают путем добавления питательных элементов и факторов роста, необходимых для роста и/или выживания. Как правило, среда определенного состава содержит по меньшей мере один компонент из одной или нескольких следующих категорий: а) все незаменимые аминокислоты и, как правило, основной набор из двадцати аминокислот плюс цистеин; б) источник энергии, обычно в форме углевода, такого как глюкоза; в) витамины и/или другие органические соединения, необходимые в низких концентрациях; г) свободные жирные кислоты; и е) микроэлементы, где микроэлементы определяются как

неорганические соединения или встречающиеся в природе элементы, которые обычно требуются в очень низких концентрациях, обычно в микромолярном диапазоне. Среда определенного состава может также быть дополнена одним или несколькими компонентами из любой из следующих категорий: а) одним или несколькими митогенными агентами; б) солями и буферами, такими как, например, кальциевые, магниевые и фосфатные; в) нуклеозидами и основаниями, такими как, например, аденозин и тимидин, гипоксантин; и г) белковыми и тканевыми гидролизатами.

[00181] Термин «агонист» используется в самом широком смысле и включает любую молекулу, которая имитирует биологическую активность нативного полипептида, раскрытого в данном документе. Подходящие молекулы-агонисты, в частности, включают антитела-агонисты или фрагменты антител, фрагменты или варианты аминокислотной последовательности нативных полипептидов, пептидов, небольших органических молекул и т.д. Способы идентификации агонистов нативного полипептида могут включать приведение в контакт нативного полипептида с агонистической молекулой-кандидатом и измерение выявляемого изменения одной или нескольких биологических активностей, присущих нативному полипептиду.

[00182] В данном документе термины «лечение» или «лечить», или «облегчение», или «улучшение» используются взаимозаменяемо. Эти термины относятся к подходу для получения полезных или желаемых результатов, включая, помимо прочего, терапевтическое действие и/или профилактическое действие. Под терапевтическим действием понимают устранение или ослабление основного заболевания, которое лечат. Кроме того, терапевтическое действие достигается за счет устранения или ослабления одного или нескольких физиологических симптомов или улучшения одного или нескольких клинических параметров, связанных с первичным заболеванием, так что у субъекта наблюдается улучшение, несмотря на то, что субъект все еще может страдать первичным заболеванием. Для профилактического действия композиции можно вводить субъекту, подверженному риску развития конкретного заболевания, или субъекту, сообщающему об одном или нескольких физиологических симптомах заболевания, даже если диагноз этого заболевания возможно не поставлен.

[00183] Термины «терапевтический эффект» или «терапевтическое действие», используемые в данном документе, относятся к физиологическому эффекту, включая смягчение, улучшение или предотвращение заболевания или улучшение одного или

нескольких клинических параметров, связанных с первичным заболеванием у людей или животных, или иное улучшение физического или психического благополучия людей или животных в результате введения полипептида по настоящему изобретению, отличного от способности индуцировать выработку антитела против антигенного эпитопа, которым обладает биологически активный белок, но не ограничиваясь перечисленным. Для профилактического действия композиции можно вводить субъекту, подверженному риску развития конкретного заболевания, рецидива прежнего заболевания, состояния или симптома заболевания, или субъекту, сообщающему об одном или нескольких физиологических симптомах заболевания, даже если диагноз этого заболевания возможно не поставлен.

[00184] Используемые в данном документе термины «терапевтически эффективное количество» и «терапевтически эффективная доза» относятся к количеству лекарственного средства или биологически активного белка, как в отдельности, так и в виде части полипептидной композиции, которое способно иметь любое выявляемое благоприятное воздействие на любой симптом, аспект, измеренный параметр или характеристику патологического состояния или состояния при введении субъекту одной или многократных доз. Такой эффект не обязательно должен быть абсолютным, чтобы приносить пользу. Определение терапевтически эффективного количества находится в пределах компетенции специалистов в данной области, особенно в свете подробного описания, представленного в данном документе.

[00185] Термин «эквивалентная молярная доза» означает, что количества веществ, вводимых субъекту, имеют эквивалентное количество молей в расчете на молекулярную массу вещества, используемого в дозе.

[00186] Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективная и нетоксичная доза» относится к приемлемой дозе композиций, как определено в данном документе, которая является достаточно высокой, чтобы вызвать истощение опухолевых или раковых клеток, устранение опухоли, уменьшение опухоли или стабилизацию заболевания без или по существу без серьезных токсических эффектов у субъекта. Такие терапевтически эффективные и нетоксичные дозы могут быть определены с помощью исследований с увеличением дозы, описанных в данной области, и должны быть ниже дозы, вызывающей тяжелые побочные эффекты.

[00187] Термин «схема введения», используемый в данном документе, относится к схеме

последовательного введения многократных доз (то есть по меньшей мере двух или более) композиции, где дозы даны в терапевтически эффективных количествах, чтобы оказать устойчивый благоприятный эффект на любой симптом, аспект, измеряемый параметр, конечную точку или характеристику заболевания или патологического состояния.

[00188] Термины «рак» и «раковый» относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом/пролиферацией клеток. Примеры рака включают карциномы, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лимфому из мантийных клеток, бластому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак предстательной железы, злокачественные новообразования головы и шеи, любую форму рака кожи, меланому, рак мочеполовых путей, рак яичников, рак яичников со злокачественным асцитом, карциноматоз брюшины, серозную карциному матки, рак эндометрия, рак шейки матки, колоректальный рак, эпителиальные злокачественные новообразования брюшной полости со злокачественным асцитом, рак матки, мезотелиому брюшины, рак почки, рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, рак желудка, рак пищевода, рак желудка, рак тонкой кишки, рак печени, гепатокарциному, гепатобластому, липосаркому, рак поджелудочной железы, рак желчного пузыря, рак желчевыводящих путей, карциному слюнной железы, рак щитовидной железы, злокачественные новообразования эпителиального происхождения, аденокарциному, саркомы любого происхождения, первичные гемобластозы, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастению гравис, Базедову болезнь, тиреоидит Хашимото или синдром Гудпасчера, но не ограничиваются ими.

[00189] «Опухолеспецифический маркер» в данном документе относится к антигену, который обнаружен на или в опухолевой клетке.

[00190] «Клетка-мишень» относится к клетке, которая имеет лиганд для связывающей группировки, антитела или фрагмента антитела рассматриваемых композиций и связана или вызывает заболевание, или патологическое состояние, включая раковые клетки, опухолевые клетки и воспалительные клетки. Лиганд клетки-мишени упоминается в данном документе как «целевой клеточный маркер» или «антиген клетки-мишени» и включает рецепторы или антигены клеточной поверхности, цитокины, рецепторы

цитокинов, белки MHC и белки цитозоля или пептиды, которые презентированы экзогенно, но не ограничивается перечисленным. В данном документе «клетка-мишень» не будет включать эффекторную клетку.

I. ОБЩИЕ МЕТОДЫ

[00191] При осуществлении данного изобретения используют стандартные методы иммунологии, биохимии, химии, молекулярной биологии, микробиологии, клеточной биологии, геномики и рекомбинирования ДНК, известные специалистам в области техники. *См.* Sambrook, J. *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001; "Current protocols in molecular biology", F. M. Ausubel, *et al.* eds.,1987; the series "Methods in Enzymology," Academic Press, San Diego, CA.; "PCR 2: a practical approach", M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds., Oxford University Press, 1995; "Antibodies, a laboratory manual" Harlow, E. and Lane, D. eds., Cold Spring Harbor Laboratory, 1988; "Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics," 11th Edition, McGraw-Hill, 2005; and Freshney, R.I., "Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique," 4th edition, John Wiley & Sons, Somerset, NJ, 2000, содержание которых включено во всей полноте путем ссылки.

[00192] Клетки-хозяева можно культивировать в различных средах. Для культивирования эукариотических клеток подходят доступные для приобретения среды, такие как среда F10 Хэма (Sigma), минимальная незаменимая среда (MEM, Sigma), RPMI-1640 (Sigma) и среда Дульбекко в модификации Игла (DMEM, Sigma). Кроме того, клетки млекопитающих можно культивировать в среде определенного состава, которая не содержит сыворотки, но в которую добавлены гормоны, факторы роста или любые другие факторы, необходимые для жизнеспособности и/или роста конкретного типа клеток. В то время как среда определенного состава поддерживает жизнеспособность, морфологию, способность к метаболизму и, возможно, способность клетки дифференцироваться, среда определенного состава, способствующая росту клеток, обеспечивает все химические вещества, необходимые для пролиферации или размножения клеток. Общие параметры, регулирующие жизнеспособность и рост клеток млекопитающих *in vitro*, хорошо известны в данной области. Физико-химическими параметрами, которые можно контролировать в различных системах культивирования клеток, являются, например, pH, pO_2, температура и осмолярность. Требующиеся клеткам питательные вещества обычно обеспечиваются средами стандартного состава, разработанными для обеспечения

оптимального окружения. Питательные вещества можно разделить на несколько категорий: аминокислоты и их производные, углеводы, сахара, жирные кислоты, сложные липиды, производные нуклеиновых кислот и витамины. Помимо питательных веществ для поддержания клеточного метаболизма, большинству клеток также требуется один или несколько гормонов по меньшей мере из одной из следующих групп: стероиды, простагландины, факторы роста, гормоны гипофиза и пептидные гормоны для пролиферации в бессывороточной среде (Sato, G. H., et al. in “Growth of Cells in Hormonally Defined Media”, Cold Spring Harbor Press, N.Y., 1982). Для выживания и роста *in vitro* помимо гормонов клеткам могут требоваться транспортные белки, такие как трансферрин (белок, транспортирующий железо в плазме), церулоплазмин (белок, транспортирующий медь) и липопротеин высокой плотности (носитель липидов). Набор оптимальных гормонов или транспортных белков будет варьироваться для каждого типа клеток. Большинство этих гормонов или транспортных белков добавляют экзогенно, или, в редких случаях, обнаруживали линию мутантных клеток, не требующих конкретного фактора. Специалисты в данной области техники без излишних экспериментов установят другие факторы, необходимые для поддержания культуры клеток.

[00193] Среда для роста прокариотических клеток-хозяев включает питательные бульоны (жидкую питательную среду) или среду LB (Luria Bertani). Подходящие среды включают среды определенного и неопределенного состава. Как правило, среда содержит источник углерода, такой как глюкоза, необходимая для роста бактерий, воду и соли. Среда может также включать источник аминокислот и азота, например, мясной или дрожжевой экстракт (в среде неопределенного состава) или известные количества аминокислот (в среде определенного состава). В одном воплощении питательная среда представляет собой среду LB, например, среду LB Miller или среду LB Lennox. Среда LB содержит пептон (продукт ферментативного расщепления казеина), дрожжевой экстракт и хлорид натрия. В одном воплощении используется селективная среда, которая содержит антибиотик. В этой среде будут расти только нужные клетки, обладающие устойчивостью к антибиотику.

II. Рекомбинантные полипептиды и активируемые композиции антител

[00194] Настоящее изобретение относится к рекомбинантным полипептидам, содержащим по меньшей мере три категории компонентов; связывающие группировки, высвобождающие сегменты (RS) и объемные группировки; каждый из которых описан

более подробно в настоящем документе. В изобретении также предложены конфигурации рекомбинантных полипептидов, которые специально разработаны для придания композициям фармацевтически и терапевтически выгодных свойств по сравнению с традиционными терапевтическими средствами на основе антител и цитокинов.

[00195] В первом аспекте изобретение относится к композициям рекомбинантных полипептидов, имеющих первую связывающую группировку (FBM), предназначенную для связывания целевого лиганда, высвобождающего сегмента, который является субстратом для протеазы млекопитающего, и объемной группировки, такой как XTEN, где FBM представляет собой антитело, цитокин, клеточный рецептор или его фрагмент. Рекомбинантные полипептиды, содержащие одну связывающую группировку, могут быть предназначены для придания композиции свойства пролекарства, чтобы сделать ее менее реакционноспособной, когда она находится в кровообращении или в контакте со здоровыми тканями, но когда она находится в непосредственной близости от пораженных тканей или клеток, которые продуцируют или имеют ко-локализованные протеазы, которые способны расщеплять RS, включенный в рекомбинантный полипептид, FBM и XTEN высвобождаются, так что XTEN больше не экранирует FBM, и аффинность связывания FBM со своим лигандом полностью восстанавливается. В некоторых воплощениях FBM, подходящая для включения в рассматриваемые композиции, включает цитокины, хемокины и интерлейкины (такие как интерлейкин-1 (IL-1), IL-12 и IL-18, фактор некроза опухоли (TNF), гамма-интерферон (IFN-гамма), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, C-C-хемокины (RANTES, моноцитарный хемоаттрактантный белок или MCP-1, моноцитарный воспалительный белок или MIP-1 и MIP-1β), C-X-C-хемокины (IL-8 также называется онкогеном, связанным с ростом или GRO/KC), C-хемокины (лимфотактин) и CXXXC-хемокины (фракталкин), но не ограничивается ими. В других воплощениях FBM, подходящая для включения в рассматриваемые композиции, включает фрагменты антител, которые обладают аффинностью связывания с опухолеассоциированными антигенами, включая маркеры клеток-мишеней из Таблицы 5, но не ограничиваясь ими. В предшествующих воплощениях рекомбинантные полипептиды дополнительно содержат RS1 из Таблиц 1 или 2 и XTEN из Таблиц 8 или 10 или их варианты последовательности (как описано более полно ниже).

[00196] Во втором аспекте изобретения предложены композиции рекомбинантных

полипептидов, содержащие два фрагмента антитела, один или более чем один высвобождающий сегмент и один или более чем один XTEN, которые активируются путем расщепления высвобождающих сегментов, так что фрагменты антитела высвобождаются из композиции и их аффинность связывания со своими лигандами полностью восстанавливается. Такие рекомбинантные полипептиды, имеющие два фрагмента антитела, также упоминаются в данном документе как активируемые композиции антител (AAC). В одном воплощении AAC, имеющий первую связывающую группировку (FBM), слитую со второй связывающей группировкой (SBM), в которой и FBM, и SBM являются фрагментами антител, дополнительно содержит по меньшей мере первый высвобождающий сегмент и по меньшей мере первый XTEN.

[00197] Конструкции AAC, описанные в данном документе, придают множество терапевтических преимуществ по сравнению с традиционными моноклональными антителами и другими биспецифическими молекулами меньшего размера. Особо следует отметить условную активацию AAC по данному изобретению. Интактная, нерасщепленная AAC обладает пониженной способностью связывать целевые маркеры клеток-мишеней из-за эффекта экранирования объемным неструктурированным XTEN, привязанным к AAC высвобождающим сегментом. Таким образом, специфическая активность приведенных в качестве примера композиций по данному изобретению по отношению к здоровой нормальной ткани значительно снижена по сравнению с активностью аналогичных антител и фрагментов антител. Способность полипептидов AAC активироваться в нужном месте их действия (например, в непосредственной близости от пораженной ткани, такой как опухоль или раковая клетка), оставаясь при этом по существу неактивными во время их продвижения к этому участку, является прогрессом в области иммуно-онкологических терапевтических средств, обеспечивая перспективные мощные и специфические терапевтические средства с улучшенным терапевтическим индексом, а также легкий в конструировании и изготовлении формат, который можно применять для множества клеток-мишеней, таких как описанные в настоящем документе.

[00198] AAC, описанная в данном документе, с фрагментами антитела FBM и SBM, предназначена для обеспечения адресного взаимодействия и уничтожения клеток, экспрессирующих маркер клетки-мишени, путем рекрутирования цитотоксических эффекторных клеток, например, Т-клеток. Интактная нерасщепленная AAC находится в форме пролекарства, в которой XTEN экранирует связывающие группировки, уменьшая

их аффинность связывания с их лигандами до тех пор, пока они не высвободятся из композиции в результате расщепления протеазой любого из сайтов расщепления протеазой, расположенных в RS. Это улучшает специфичность композиции по отношению к пораженным тканям или клеткам по сравнению с биспецифическими терапевтическими средствами, активирующими Т-клетки, не находящимися в формате пролекарства. Напротив, в результате специфической активации ААС в микроокружении клетки-мишени или пораженной ткани, сверхэкспрессирующих маркер клетки-мишени и протеазы, способные расщеплять RS, биспецифические связывающие группировки и XTEN конструкций ААС высвобождаются при расщеплении RS и слитые фрагменты антител FBM и SBM могут связывать цитотоксические эффекторные клетки с клетками, экспрессирующими маркер клетки-мишени, очень специфично, тем самым направляя цитотоксический потенциал Т-клетки против клетки-мишени.

[00199] В приведенной в качестве примера ААС после высвобождения слитый фрагмент антитела FBM-SBM, имеющий гораздо меньший размер по сравнению с нерасщепленной ААС, затем может свободно проникать в сайты-мишени, например, опухолевую массу, чтобы достичь, связаться и соединить вместе клетку-мишень и цитотоксическую Т-клетку. Кроме того, весь процесс не зависит от интернализации композиции. В одном воплощении конструкции ААС, описанные в данном документе, задействуют цитотоксические Т-клетки посредством связывания с экспрессируемым на поверхности CD3, который образует часть комплекса рецепторов Т-клеток, вызывая активацию Т-клеток, которая опосредует последующий лизис клетки, экспрессирующей конкретный маркер клетки-мишени. Таким образом, предполагается, что ААС демонстрирует выраженное, специфическое и эффективное уничтожение клетки-мишени.

[00200] Не ограничиваясь какой-либо теорией, полагают, что описанная в данном документе ААС стимулирует уничтожение клеток-мишеней цитотоксическими эффекторными клетками, чтобы устранить клетки, экспрессирующие конкретный маркер клетки-мишени, связанный со специфической к мишени нацеливающей группировкой ААС в богатом протеазами микроокружении (например, опухолях). В таком случае клетки удаляются избирательно, тем самым сокращаются возможные токсические побочные эффекты. Протеазы, которые, как известно, связаны с пораженными клетками или тканями, включают сериновые протеазы, цистеиновые протеазы, аспарагиновые протеазы и металлопротеазы, но не ограничиваются ими.

[00201] AAC по настоящему изобретению может придавать дополнительные терапевтические и фармацевтические преимущества по сравнению с известными моноклональными антителами и другими биспецифическими молекулами меньшего размера. Обычные биспецифические молекулы предназначены для связывания с клеткой-мишенью, имеющей специфический клеточный маркер, связанный с патогенной клеткой. Токсичность и нежелательные побочные эффекты возможны, когда в некоторых случаях здоровые клетки или ткани экспрессируют тот же маркер, что и клетка-мишень. Одним преимуществом AAC по изобретению является то, что связывание с CD3 и клетками-мишенями усиливается после высвобождения связывающих группировок под действием протеазы, экспрессируемой или ассоциированной с пораженной тканью, в которой находится клетка-мишень, такая как опухолевая клетка, что позволяет связываться высвобожденным слитым фрагментам антител FBM и SBM с маркером клетки-мишени и эффекторной клеткой с образованием иммунологического синапса. Как показано на Фиг. 11 и 12, в приведенных в качестве примера воплощениях две связывающих группировки фрагмента антитела AAC слиты друг с другом коротким линкером и, в свою очередь, связаны с XTEN высвобождающим сегментом, имеющим один или несколько сайтов расщепления, что обеспечивает освобождение слитых фрагментов антитела FBM и SBM от XTEN при расщеплении одной или несколькими протеазами, ко-локализованными с пораженной тканью. Связывающие группировки AAC могут находиться в формате любой одноцепочечной связывающей группировки, включая Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')2, линейные антитела, однодоменное антитело, однодоменное антитело и молекулы одноцепочечных вариабельных фрагментов антител (scFv). Два слитых фрагмента антитела FBM и SBM также могут быть включены в диатело, имеющее одноцепочечный формат, в котором VL и VH и объединяющие их линкеры организованы специальным образом.

[00202] Композиции полипептидов, способные связывать пораженные ткани, такие как опухоли, имеют оптимальный размер для лучшего проникновения в ткани и распределения в тканях терапевтического средства. Однако, с другой стороны, желательно уменьшить почечный клиренс, пресистемный метаболизм, а также уменьшить утечку из кровеносных сосудов в нормальную ткань. Поскольку почка обычно отфильтровывает молекулы меньше примерно 50 кДа, усилия по снижению клиренса при разработке белковых терапевтических средств были сосредоточены на увеличении

размеров молекул за счет слияния с белками, такими как альбумин, или добавления полимеров полиэтиленгликоля. Однако, хотя увеличение размера белкового терапевтического средства может предотвратить почечный клиренс и утечку из сосудов, больший размер также препятствует проникновению молекулы в ткани-мишени. Пример AAC, описанный в данном документе, позволяет избежать этого благодаря слиянию связывающих группировок с высвобождающими сегментами и объемными группировками, такими как XTEN, которые значительно увеличивают кажущуюся молекулярную массу композиции (более подробно описано ниже) и будут предотвращать быстрый почечный клиренс и утечку из нормальной сосудистой сети, но при этом обладает способностью высвобождать XTEN при воздействии на RS протеаз, ассоциированных с тканями-мишенями, что приводит к высвобождению связывающих группировок, имеющих небольшой размер, что обеспечивает улучшенное проникновение в ткани и распределение в тканях и оптимальную эффективность. Таким образом, XTEN придает воплощениям AAC ряд благоприятных свойств, которые включают увеличенный период полувыведения, уменьшенную утечку из нормальной сосудистой сети, повышенную растворимость, пониженное связывание со здоровыми тканями, повышенный терапевтический индекс и формат пролекарства, но не ограничиваются перечисленными.

[00203] В приведенном в качестве примера воплощении данного изобретения предложена AAC, имеющая полипептид с одноцепочечной связывающей группировкой, направленный против лиганда клетки-мишени, и другой полипептид с одноцепочечной связывающей группировкой, направленный против лиганда эффекторной клетки, такого как антиген CD3, что делает конфигурацию данного компонента AAC аналогичной бифункциональным связывающим композициям, таким как блинатумомаб (обозначаемым как композиция BiTE®). Репрезентативным маркером клетки-мишени является антиген, обнаруженный на поверхности раковой клетки, например EGFR, EpCAM, HER2 или любой из маркеров-мишеней из Таблицы 5. В воплощениях полипептиды AAC содержат FBM и SBM, которые могут быть scFv, связанными через гибкий линкер, такой как в Таблице 7, или могут иметь конфигурацию одноцепочечного диатела. Хотя каждая из FBM и SBM обладает аффинностью связывания со своими соответствующими лигандами, сопоставимыми с типичными одноцепочечными связывающими группировками, XTEN интактной, нерасщепленной композиции AAC служит для значительного снижения

способности обоих scFv интактной композиции связывать их соответствующие лиганды в результате стерических препятствий из-за способности подвижного неструктурированного XTEN окружать связывающие группировки композиции. При расщеплении протеазой RS в любом из сайтов расщепления протеазой слитые связывающие группировки отделяются от XTEN, что позволяет слитым группировке, связывающей мишень, и группировке, связывающей CD3, совместно связывать их соответствующие лиганды с образованием иммунологического синапса между клеткой-мишенью и эффекторной Т-клеткой. В тех воплощениях, в которых рекомбинантный полипептид содержит одну группировку, связывающую мишень, такую как цитокин или анти-цитокин, высвобожденная связывающая группировка будет аналогичным образом обладать повышенной способностью связывать свой лиганд при высвобождении из интактной композиции под действием протеазы на RS.

III. Высвобождающие сегменты

[00204] В другом аспекте настоящего изобретения предложены пептиды высвобождающего сегмента (RS), которые являются субстратами для одной или более протеаз млекопитающих, ассоциированных или продуцируемых пораженными тканями или клетками, обнаруженными в непосредственной близости от пораженных тканей. Такие протеазы могут включать такие классы протеаз, как металлопротеиназы, цистеиновые протеазы, аспарагиновые протеазы и сериновые протеазы, но не ограничиваться ими, включая протеазы из Таблицы 3, но не ограничиваясь ими. RS могут найти применение, среди прочего, для включения в рассматриваемые рекомбинантные полипептиды, придавая формат пролекарства, которое может активироваться при расщеплении RS протеазами млекопитающих. Как описано в данном документе, RS включены в рассматриваемые композиции рекомбинантных полипептидов, связывая включенные связывающие группировки с XTEN (конфигурации которых описаны более полно ниже), так что при расщеплении RS под действием одной или более чем одной протеазы, для которых RS являются субстратами, связывающие группировки и XTEN высвобождаются из композиции, и связывающие группировки, более не экранированные XTEN, полностью восстанавливают способность связывать свои лиганды. В данном документе эти композиции рекомбинантных полипептидов, содержащие первый и второй фрагменты антител, также называют в настоящем документе активируемыми композициями антител (AAC).

[00205] В одном воплощении настоящего изобретения предложены активируемые рекомбинантные полипептиды, содержащие последовательность первого высвобождающего сегмента (RS1), обладающего идентичностью по меньшей мере 88%, или по меньшей мере 94% или 100% при оптимальном выравнивании с последовательностью, выбранной из последовательностей, указанных в Таблице 1, где RS1 представляет собой субстрат для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В других воплощениях изобретения предложены активируемые рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и последовательность второго высвобождающего сегмента (RS2), каждая из которых обладает идентичностью по меньшей мере 88%, или по меньшей мере 94% или 100% при оптимальном выравнивании с последовательностью, выбранной из последовательностей, указанных в Таблице 1, где каждый из RS1 и RS2 является субстратом для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В другом воплощении изобретения предложены активируемые рекомбинантные полипептиды, содержащие первую последовательность RS (RS1), обладающую идентичностью по меньшей мере 90%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 97% или 100% при оптимальном выравнивании с последовательностью, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 2, где RS является субстратом для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В других воплощениях изобретения предложены активируемые рекомбинантные полипептиды, содержащие RS1 и последовательность второго высвобождающего сегмента (RS2), каждая из которых обладает идентичностью по меньшей мере 88% или по меньшей мере 94% или 100% при оптимальном выравнивании с последовательностью, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 2, где каждый из RS1 и RS2 является субстратом для одной или более чем одной протеазы млекопитающего. В воплощениях активируемых рекомбинантных полипептидов, содержащих RS1 и RS2, два высвобождающих сегмента могут быть идентичными или последовательности могут быть различными.

[00206] Данное изобретение предусматривает высвобождающие сегменты, которые являются субстратами для одного, двух или трех различных классов протеаз, выбранных из металлопротеиназ, цистеиновых протеаз, аспарагиновых протеаз и сериновых протеаз, включая протеазы из Таблицы 3. В частности, RS служат в качестве субстратов для протеаз, которые обнаруживаются в тесной связи или ко-локализованы с пораженными тканями или клетками, такими как опухоли, раковые клетки и воспалительные ткани, но

не ограничиваясь ими, и при расщеплении RS, связывающие группировки, которые в противном случае экранированы XTEN рассматриваемых композиций рекомбинантных полипептидов (и, таким образом, имеют более низкую аффинность к их соответствующим лигандам), высвобождаются из композиции и полностью восстанавливают свою способность связываться с лигандами клеток-мишеней и/или эффекторных клеток. В другом воплощении RS рассматриваемых композиций рекомбинантных полипептидов содержит аминокислотную последовательность, которая является субстратом для клеточной протеазы, расположенной внутри клетки-мишени, включая протеазы из Таблицы 3, но не ограничиваясь ими. В другом конкретном воплощении рассматриваемых композиций рекомбинантных полипептидов RS, которые являются субстратами для двух или трех классов протеаз, были сконструированы с последовательностями, которые способны расщепляться в разных местах последовательности RS различными протеазами, репрезентативный пример представлен на Фиг. 36. Таким образом, RS, которые являются субстратами для двух, трех или более классов протеаз, имеют два, три или множество различных сайтов расщепления в последовательности RS, но при этом расщепление одной протеазой приводит к высвобождению связывающих группировок и XTEN из композиции рекомбинантного полипептида, содержащей RS.

[00207] В одном воплощении RS для включения в рассматриваемые рекомбинантные полипептидные композиции представляет собой субстрат для одной или нескольких протеаз, выбранных из группы, состоящей из меприна, неприлизина (CD10), PSMA, BMP-1, дизинтегрина и металлопротеиназ (ADAM), ADAM8, ADAM9, ADAM 10, ADAM 12, ADAM15, ADAM17 (TACE), ADAM19, ADAM28 (MDC-L), ADAM с мотивами тромбоспондина (ADAMTS), ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS5, MMP-1 (коллагеназы 1), матриксной металлопротеиназы-1 (MMP-1), матриксной металлопротеиназы-2 (MMP-2, желатиназы A), матриксной металлопротеиназы-3 (MMP-3, стромелизина 1), матриксной металлопротеиназы-7 (MMP-7, матрилизина 1), матриксной металлопротеиназы-8 (MMP-8, коллагеназы 2), матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9, желатиназы B), матриксной металлопротеиназы-10 (MMP-10, стромелизина 2), матриксной металлопротеиназы-11 (MMP-11, стромелизина 3), матриксной металлопротеиназы-12 (MMP-12, эластазы макрофагов), матриксной металлопротеиназы-13 (MMP-13, коллагеназы 3), матриксной металлопротеиназы-14 (MMP-14, MT1-MMP), матриксной металлопротеиназы-15 (MMP-

15, MT2-MMP), матриксной металлопротеиназы-19 (MMP-19), матриксной металлопротеиназы-23 (MMP-23, CA-MMP), матриксной металлопротеиназы-24 (MMP-24, MT5-MMP), матриксной металлопротеиназы-26 (MMP-26, матрилизина 2), матриксной металлопротеиназы-27 (MMP-27, CMMP), легумаина, катепсина B, катепсина C, катепсина K, катепсина L, катепсина S, катепсина X, катепсина D, катепсина E, секретазы, урокиназы (uPA), тканевого активатора плазминогена (tPA), плазмина, тромбина, простат-специфического антигена (PSA, KLK3), нейтрофильной эластазы человека (HNE), эластазы, триптазы, трансмембранных сериновых протеаз II типа (TTSPs), DESC1, гепсина (HPN), матриптазы, матриптазы-2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (CAP2), белка активации фибробластов (FAP), калликреин-связанной пептидазы (семейство KLK), KLK4, KLK5, KLK6, KLK7, KLK8, KLK10, KLK11, KLK13 и KLK14. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для ADAM17. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для BMP-1. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для катепсина. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для HtrA1. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для легумаина. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MMP-1. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MMP-2. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MMP-7. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MMP-9. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MMP-11. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MMP-14. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для uPA. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для матриптазы. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для MT-SP1. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для эластазы нейтрофилов. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для тромбина. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для TMPRSS3. В одном воплощении RS представляет собой субстрат для TMPRSS4. В одном воплощении RS рассматриваемых композиций рекомбинантного полипептида представляет собой субстрат для по меньшей мере двух протеаз, выбранных из группы, состоящей из легумаина, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA и матриптазы. В другом воплощении RS рассматриваемых композиций рекомбинантного полипептида представляет собой субстрат для легумаина, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA и матриптазы.

Таблица 1. Последовательности высвобождающих сегментов

Название	ID конструкции	Аминокислотная последовательность
RSR-1517	AC1611	EAGRSANHEPLGLVAT
BSRS-A1	AC1605	ASGRSTNAGPSGLAGP
BSRS-A2	AC1606	ASGRSTNAGPQGLAGQ
BSRS-A3	AC1607	ASGRSTNAGPPGLTGP
VP-1	AC1608	ASSRGTNAGPAGLTGP
RSR-1752	AC1609	ASSRTTNTGPSTLTGP
RSR-1512	AC1610	AAGRSDNGTPLELVAP
RSR-1517	AC1611	EAGRSANHEPLGLVAT
VP-2	AC1612	ASGRGTNAGPAGLTGP
RSR-1018	AC1613	LFGRNDNHEPLELGGG
RSR-1053	AC1614	TAGRSDNLEPLGLVFG
RSR-1059	AC1615	LDGRSDNFHPPELVAG
RSR-1065	AC1616	LEGRSDNEEPENLVAG
RSR-1167	AC1617	LKGRSDNNAPLALVAG
RSR-1201	AC1618	VYSRGTNAGPHGLTGR
RSR-1218	AC1619	ANSRGTNKGFAGLIGP
RSR-1226	AC1620	ASSRLTNEAPAGLTIP
RSR-1254	AC1621	DQSRGTNAGPEGLTDP
RSR-1256	AC1622	ESSRGTNIGQGGLTGP
RSR-1261	AC1623	SSSRGTNQDPAGLTIP
RSR-1293	AC1624	ASSRGQNHSPMGLTGP
RSR-1309	AC1625	AYSRGPNAGPAGLEGR
RSR-1326	AC1626	ASERGNNAGPANLTGF
RSR-1345	AC1627	ASHRGTNPKPAILTGP
RSR-1354	AC1628	MSSRRTNANPAQLTGP
RSR-1426	AC1629	GAGRTDNHEPLELGAA
RSR-1478	AC1630	LAGRSENTAPLELTAG
RSR-1479	AC1631	LEGRPDNHEPLALVAS
RSR-1496	AC1632	LSGRSDNEEPLALPAG
RSR-1508	AC1633	EAGRTDNHEPLELSAP
RSR-1513	AC1634	EGGRSDNHGPLELVSG
RSR-1516	AC1635	LSGRSDNEAPLELEAG
RSR-1524	AC1636	LGGRADNHEPPELGAG
RSR-1622	AC1637	PPSRGTNAEPAGLTGE
RSR-1629	AC1638	ASTRGENAGPAGLEAP
RSR-1664	AC1639	ESSRGTNGAPEGLTGP
RSR-1667	AC1640	ASSRATNESPAGLTGE
RSR-1709	AC1641	ASSRGENPPPGGLTGP
RSR-1712	AC1642	AASRGTNTGPAELTGS
RSR-1727	AC1643	AGSRTTNAGPGGLEGP
RSR-1754	AC1644	APSRGENAGPATLTGA
RSR-1819	AC1645	ESGRAANTGPPTLTAP
RSR-1832	AC1646	NPGRAANEGPPGLPGS
RSR-1855	AC1647	ESSRAANLTPPELTGP
RSR-1911	AC1648	ASGRAANETPPGLTGA
RSR-1929	AC1649	NSGRGENLGAPGLTGT
RSR-1951	AC1650	TTGRAANLTPAGLTGP
RSR-2295	AC1761	EAGRSANHTPAGLTGP
RSR-2298	AC1762	ESGRAANTTPAGLTGP
RSR-2038	AC1679	TTGRATEAANLTPAGLTGP
RSR-2072	AC1680	TTGRAEEAANLTPAGLTGP
RSR-2089	AC1681	TTGRAGEAANLTPAGLTGP
RSR-2302	AC1682	TTGRATEAANATPAGLTGP

Название	ID конструкции	Аминокислотная последовательность
RSR-3047	AC1697	TTGRAGEAEGATSAGATGP
RSR-3052	AC1698	TTGEAGEAANATSAGATGP
RSR-3043	AC1699	TTGEAGEAAGLTPAGLTGP
RSR-3041	AC1700	TTGAAGEAANATPAGLTGP
RSR-3044	AC1701	TTGRAGEAAGLTPAGLTGP
RSR-3057	AC1702	TTGRAGEAANATSAGATGP
RSR-3058	AC1703	TTGEAGEAAGATSAGATGP
RSR-2485	AC1763	ESGRAANTEPPELGAG
RSR-2486	AC1764	ESGRAANTAPEGLTGP
RSR-2488	AC1688	EPGRAANHEPSGLTEG
RSR-2599	AC1706	ESGRAANHTGAPPGGLTGP
RSR-2706	AC1716	TTGRTGEGANATPGGLTGP
RSR-2707	AC1717	RTGRSGEAANETPEGLEGP
RSR-2708	AC1718	RTGRTGESANETPAGLGGP
RSR-2709	AC1719	STGRTGEPANETPAGLSGP
RSR-2710	AC1720	TTGRAGEPANATPTGLSGP
RSR-2711	AC1721	RTGRPGEGANATPTGLPGP
RSR-2712	AC1722	RTGRGGEAANATPSGLGGP
RSR-2713	AC1723	STGRSGESANATPGGLGGP
RSR-2714	AC1724	RTGRTGEEANATPAGLPGP
RSR-2715	AC1725	ATGRPGEPANTTPEGLEGP
RSR-2716	AC1726	STGRSGEPANATPGGLTGP
RSR-2717	AC1727	PTGRGGEGANTTPTGLPGP
RSR-2718	AC1728	PTGRSGEGANATPSGLTGP
RSR-2719	AC1729	TTGRASEGANSTPAPLTEP
RSR-2720	AC1730	TYGRAAEAANTTPAGLTAP
RSR-2721	AC1731	TTGRATEGANATPAELTEP
RSR-2722	AC1732	TVGRASEEANTTPASLTGP
RSR-2723	AC1733	TTGRAPEAANATPAPLTGP
RSR-2724	AC1734	TWGRATEPANATPAPLTSP
RSR-2725	AC1735	TVGRASESANATPAELTSP
RSR-2726	AC1736	TVGRAPEGANSTPAGLTGP
RSR-2727	AC1737	TWGRATEAPNLEPATLTTP
RSR-2728	AC1738	TTGRATEAPNLTPAPLTEP
RSR-2729	AC1739	TQGRATEAPNLSPAALTSP
RSR-2730	AC1740	TQGRAAEAPNLTPATLTAP
RSR-2731	AC1741	TSGRAPEATNLAPAPLTGP
RSR-2732	AC1742	TQGRAAEAANLTPAGLTEP
RSR-2733	AC1743	TTGRAGSAPNLPPTGLTTP
RSR-2734	AC1744	TTGRAGGAENLPPEGLTAP
RSR-2735	AC1745	TTSRAGTATNLTPEGLTAP
RSR-2736	AC1746	TTGRAGTATNLPPSGLTTP
RSR-2737	AC1747	TTARAGEAENLSPSGLTAP
RSR-2738	AC1748	TTGRAGGAGNLAPGGLTEP
RSR-2739	AC1749	TTGRAGTATNLPPEGLTGP
RSR-2740	AC1750	TTGRAGGAANLAPTGLTEP
RSR-2741	AC1751	TTGRAGTAENLAPSGLTTP
RSR-2742	AC1752	TTGRAGSATNLGPGGLTGP
RSR-2743	AC1753	TTARAGGAENLTPAGLTEP
RSR-2744	AC1754	TTARAGSAENLSPSGLTGP
RSR-2745	AC1755	TTARAGGAGNLAPEGLTTP
RSR-2746	AC1756	TTSRAGAAENLTPTGLTGP
RSR-2747	AC1757	TYGRTTTPGNEPPASLEAE

Название	ID конструкции	Аминокислотная последовательность
RSR-2748	AC1758	TYSRGESGPNEPPPGLTGP
RSR-2749	AC1759	AWGRTGASENETPAPLGGE
RSR-2750	AC1760	RWGRAETTPNTPPEGLETE
RSR-2751	AC1765	ESGRAANHTGAEPPELGAG
RSR-2754	AC1801	TTGRAGEAANLTPAGLTES
RSR-2755	AC1802	TTGRAGEAANLTPAALTES
RSR-2756	AC1803	TTGRAGEAANLTPAPLTES
RSR-2757	AC1804	TTGRAGEAANLTPEPLTES
RSR-2758	AC1805	TTGRAGEAANLTPAGLTGA
RSR-2759	AC1806	TTGRAGEAANLTPEGLTGA
RSR-2760	AC1807	TTGRAGEAANLTPEPLTGA
RSR-2761	AC1808	TTGRAGEAANLTPAGLTEA
RSR-2762	AC1809	TTGRAGEAANLTPEGLTEA
RSR-2763	AC1810	TTGRAGEAANLTPAPLTEA
RSR-2764	AC1811	TTGRAGEAANLTPEPLTEA
RSR-2765	AC1812	TTGRAGEAANLTPEPLTGP
RSR-2766	AC1813	TTGRAGEAANLTPAGLTGG
RSR-2767	AC1814	TTGRAGEAANLTPEGLTGG
RSR-2768	AC1815	TTGRAGEAANLTPEALTGG
RSR-2769	AC1816	TTGRAGEAANLTPEPLTGG
RSR-2770	AC1817	TTGRAGEAANLTPAGLTEG
RSR-2771	AC1818	TTGRAGEAANLTPEGLTEG
RSR-2772	AC1819	TTGRAGEAANLTPAPLTEG
RSR-2773	AC1820	TTGRAGEAANLTPEPLTEG

Таблица 2. Последовательности высвобождающих сегментов

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
RSN-0001	GSAPGSAGGYAELRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0001	GTAEAASASGGSAGGYAELRMGGAI PGSP
RSN-0002	GSAPGTGGGYAPLRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0002	GTAEAASASGGTGGGYAPLRMGGGA PGSP
RSN-0003	GSAPGAEGGYAALRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0003	GTAEAASASGGAEGGYAALRMGGEI PGSP
RSN-0004	GSAPGGPGGYALLRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0004	GTAEAASASGGGPGGYALLRMGGPA PGSP
RSN-0005	GSAPGEAGGYAFLRMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0005	GTAEAASASGGEAGGYAFLRMGGSI PGSP
RSN-0006	GSAPGPGGGYASLRMGGTA ATSGSETPGT	RSC-0006	GTAEAASASGGPGGGYASLRMGGTA PGSP
RSN-0007	GSAPGSEGGYATLRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0007	GTAEAASASGGSEGGYATLRMGGAI PGSP
RSN-0008	GSAPGTPGGYANLRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0008	GTAEAASASGGTPGGYANLRMGGGA PGSP
RSN-0009	GSAPGASGGYAHLRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0009	GTAEAASASGGASGGYAHLRMGGEI PGSP
RSN-0010	GSAPGGTGGYGELRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0010	GTAEAASASGGGTGGYGELRMGGPA PGSP
RSN-0011	GSAPGEAGGYPELRMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0011	GTAEAASASGGEAGGYPELRMGGSI PGSP
RSN-0012	GSAPGPGGGYVELRMGGTA	RSC-0012	GTAEAASASGGPGGGYVELRMGGTA

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
	ATSGSETPGT		PGSP
RSN-0013	GSAPGSEGGYLELRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0013	GTAEAASASGGSEGGYLELRMGGAI PGSP
RSN-0014	GSAPGTPGGYSELRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0014	GTAEAASASGGTPGGYSELRMGGGA PGSP
RSN-0015	GSAPGASGGYTELRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0015	GTAEAASASGGASGGYTELRMGGEI PGSP
RSN-0016	GSAPGGTGGYQELRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0016	GTAEAASASGGGTGGYQELRMGGPA PGSP
RSN-0017	GSAPGEAGGYEELRMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0017	GTAEAASASGGEAGGYEELRMGGSI PGSP
RSN-0018	GSAPGPGIGPAELRMGGTA ATSGSETPGT	RSC-0018	GTAEAASASGGPGIGPAELRMGGTA PGSP
RSN-0019	GSAPGSEIGAAELRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0019	GTAEAASASGGSEIGAAELRMGGAI PGSP
RSN-0020	GSAPGTPIGSAELRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0020	GTAEAASASGGTPIGSAELRMGGGA PGSP
RSN-0021	GSAPGASIGTAELRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0021	GTAEAASASGGASIGTAELRMGGEI PGSP
RSN-0022	GSAPGGTIGNAELRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0022	GTAEAASASGGGTIGNAELRMGGPA PGSP
RSN-0023	GSAPGEAIGQAELRMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0023	GTAEAASASGGEAIGQAELRMGGSI PGSP
RSN-0024	GSAPGPGGPYAELRMGGTA ATSGSETPGT	RSC-0024	GTAEAASASGGPGGPYAELRMGGTA PGSP
RSN-0025	GSAPGSEGAYAELRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0025	GTAEAASASGGSEGAYAELRMGGAI PGSP
RSN-0026	GSAPGTPGVYAELRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0026	GTAEAASASGGTPGVYAELRMGGGA PGSP
RSN-0027	GSAPGASGLYAELRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0027	GTAEAASASGGASGLYAELRMGGEI PGSP
RSN-0028	GSAPGGTGIYAELRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0028	GTAEAASASGGGTGIYAELRMGGPA PGSP
RSN-0029	GSAPGEAGFYAELRMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0029	GTAEAASASGGEAGFYAELRMGGSI PGSP
RSN-0030	GSAPGPGGYYAELRMGGTA ATSGSETPGT	RSC-0030	GTAEAASASGGPGGYYAELRMGGTA PGSP
RSN-0031	GSAPGSEGSYAELRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0031	GTAEAASASGGSEGSYAELRMGGAI PGSP
RSN-0032	GSAPGTPGNYAELRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0032	GTAEAASASGGTPGNYAELRMGGGA PGSP
RSN-0033	GSAPGASGEYAELRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0033	GTAEAASASGGASGEYAELRMGGEI PGSP
RSN-0034	GSAPGGTGHYAELRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0034	GTAEAASASGGGTGHYAELRMGGPA PGSP
RSN-0035	GSAPGEAGGYAEARMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0035	GTAEAASASGGEAGGYAEARMGGSI PGSP
RSN-0036	GSAPGPGGGYAEVRMGGTA ATSGSETPGT	RSC-0036	GTAEAASASGGPGGGYAEVRMGGTA PGSP
RSN-0037	GSAPGSEGGYAEIRMGGAI ATSGSETPGT	RSC-0037	GTAEAASASGGSEGGYAEIRMGGAI PGSP
RSN-0038	GSAPGTPGGYAEFRMGGGA ATSGSETPGT	RSC-0038	GTAEAASASGGTPGGYAEFRMGGGA PGSP

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
RSN-0039	GSAPGASGGYAEYRMGGEI ATSGSETPGT	RSC-0039	GTAEAASASGGASGGYAEYRMGGEI PGSP
RSN-0040	GSAPGGTGGYAESRMGGPA ATSGSETPGT	RSC-0040	GTAEAASASGGGTGGYAESRMGGPA PGSP
RSN-0041	GSAPGEAGGYAETRMGGSI ATSGSETPGT	RSC-0041	GTAEAASASGGEAGGYAETRMGGSI PGSP
RSN-0042	GSAPGPGGGYAELAMGGTR ATSGSETPGT	RSC-0042	GTAEAASASGGPGGGYAELAMGGTR PGSP
RSN-0043	GSAPGSEGGYAELVMGGAR ATSGSETPGT	RSC-0043	GTAEAASASGGSEGGYAELVMGGAR PGSP
RSN-0044	GSAPGTPGGYAELLMGGGR ATSGSETPGT	RSC-0044	GTAEAASASGGTPGGYAELLMGGGR PGSP
RSN-0045	GSAPGASGGYAELIMGGER ATSGSETPGT	RSC-0045	GTAEAASASGGASGGYAELIMGGER PGSP
RSN-0046	GSAPGGTGGYAELWMGGPR ATSGSETPGT	RSC-0046	GTAEAASASGGGTGGYAELWMGGPR PGSP
RSN-0047	GSAPGEAGGYAELSMGGSR ATSGSETPGT	RSC-0047	GTAEAASASGGEAGGYAELSMGGSR PGSP
RSN-0048	GSAPGPGGGYAELTMGGTR ATSGSETPGT	RSC-0048	GTAEAASASGGPGGGYAELTMGGTR PGSP
RSN-0049	GSAPGSEGGYAELQMGGAR ATSGSETPGT	RSC-0049	GTAEAASASGGSEGGYAELQMGGAR PGSP
RSN-0050	GSAPGTPGGYAELNMGGGR ATSGSETPGT	RSC-0050	GTAEAASASGGTPGGYAELNMGGGR PGSP
RSN-0051	GSAPGASGGYAELEMGGER ATSGSETPGT	RSC-0051	GTAEAASASGGASGGYAELEMGGER PGSP
RSN-0052	GSAPGGTGGYAELRPGGPI ATSGSETPGT	RSC-0052	GTAEAASASGGGTGGYAELRPGGPI PGSP
RSN-0053	GSAPGEAGGYAELRAGGSA ATSGSETPGT	RSC-0053	GTAEAASASGGEAGGYAELRAGGSA PGSP
RSN-0054	GSAPGPGGGYAELRLGGTI ATSGSETPGT	RSC-0054	GTAEAASASGGPGGGYAELRLGGTI PGSP
RSN-0055	GSAPGSEGGYAELRIGGAA ATSGSETPGT	RSC-0055	GTAEAASASGGSEGGYAELRIGGAA PGSP
RSN-0056	GSAPGTPGGYAELRSGGGI ATSGSETPGT	RSC-0056	GTAEAASASGGTPGGYAELRSGGGI PGSP
RSN-0057	GSAPGASGGYAELRNGGEA ATSGSETPGT	RSC-0057	GTAEAASASGGASGGYAELRNGGEA PGSP
RSN-0058	GSAPGGTGGYAELRQGGPI ATSGSETPGT	RSC-0058	GTAEAASASGGGTGGYAELRQGGPI PGSP
RSN-0059	GSAPGEAGGYAELRDGGSA ATSGSETPGT	RSC-0059	GTAEAASASGGEAGGYAELRDGGSA PGSP
RSN-0060	GSAPGPGGGYAELREGGTI ATSGSETPGT	RSC-0060	GTAEAASASGGPGGGYAELREGGTI PGSP
RSN-0061	GSAPGSEGGYAELRHGGAA ATSGSETPGT	RSC-0061	GTAEAASASGGSEGGYAELRHGGAA PGSP
RSN-0062	GSAPGTPGGYAELRMPGGI ATSGSETPGT	RSC-0062	GTAEAASASGGTPGGYAELRMPGGI PGSP
RSN-0063	GSAPGASGGYAELRMAGEA ATSGSETPGT	RSC-0063	GTAEAASASGGASGGYAELRMAGEA PGSP
RSN-0064	GSAPGGTGGYAELRMVGPI ATSGSETPGT	RSC-0064	GTAEAASASGGGTGGYAELRMVGPI PGSP
RSN-0065	GSAPGEAGGYAELRMLGSA	RSC-0065	GTAEAASASGGEAGGYAELRMLGSA

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
	ATSGSETPGT		PGSP
RSN-0066	GSAPGPGGGYAELRMIGTI ATSGSETPGT	RSC-0066	GTAEAASASGGPGGGYAELRMIGTI PGSP
RSN-0067	GSAPGSEGGYAELRMYGAI ATSGSETPGT	RSC-0067	GTAEAASASGGSEGGYAELRMYGAI PGSP
RSN-0068	GSAPGTPGGYAELRMSGGA ATSGSETPGT	RSC-0068	GTAEAASASGGTPGGYAELRMSGGA PGSP
RSN-0069	GSAPGASGGYAELRMNGEI ATSGSETPGT	RSC-0069	GTAEAASASGGASGGYAELRMNGEI PGSP
RSN-0070	GSAPGGTGGYAELRMQGPA ATSGSETPGT	RSC-0070	GTAEAASASGGGTGGYAELRMQGPA PGSP
RSN-0071	GSAPGANHTPAGLTGPGAR ATSGSETPGT	RSC-0071	GTAEAASASGGANHTPAGLTGPGAR PGSP
RSN-0072	GSAPGANTAPEGLTGPSTR ATSGSETPGT	RSC-0072	GTAEAASASGGANTAPEGLTGPSTR PGSP
RSN-0073	GSAPGTGAPPGGLTGPGTR ATSGSETPGT	RSC-0073	GTAEAASASGGTGAPPGGLTGPGTR PGSP
RSN-0074	GSAPGANHEPSGLTEGSPR ATSGSETPGT	RSC-0074	GTAEAASASGGANHEPSGLTEGSPR PGSP
RSN-0075	GSAPGANTEPPELGAGTER ATSGSETPGT	RSC-0075	GTAEAASASGGANTEPPELGAGTER PGSP
RSN-0076	GSAPGASGPPPGLTGPPGR ATSGSETPGT	RSC-0076	GTAEAASASGGASGPPPGLTGPPGR PGSP
RSN-0077	GSAPGASGTPAPLGGEPGR ATSGSETPGT	RSC-0077	GTAEAASASGGASGTPAPLGGEPGR PGSP
RSN-0078	GSAPGPAGPPEGLETEAGR ATSGSETPGT	RSC-0078	GTAEAASASGGPAGPPEGLETEAGR PGSP
RSN-0079	GSAPGPTSGQGGLTGPESR ATSGSETPGT	RSC-0079	GTAEAASASGGPTSGQGGLTGPESR PGSP
RSN-0080	GSAPGSAGGAANLVRGGAI ATSGSETPGT	RSC-0080	GTAEAASASGGSAGGAANLVRGGAI PGSP
RSN-0081	GSAPGTGGGAAPLVRGGGA ATSGSETPGT	RSC-0081	GTAEAASASGGTGGGAAPLVRGGGA PGSP
RSN-0082	GSAPGAEGGAAALVRGGEI ATSGSETPGT	RSC-0082	GTAEAASASGGAEGGAAALVRGGEI PGSP
RSN-0083	GSAPGGPGGAALLVRGGPA ATSGSETPGT	RSC-0083	GTAEAASASGGGPGGAALLVRGGPA PGSP
RSN-0084	GSAPGEAGGAAFLVRGGSI ATSGSETPGT	RSC-0084	GTAEAASASGGEAGGAAFLVRGGSI PGSP
RSN-0085	GSAPGPGGGAASLVRGGTA ATSGSETPGT	RSC-0085	GTAEAASASGGPGGGAASLVRGGTA PGSP
RSN-0086	GSAPGSEGGAATLVRGGAI ATSGSETPGT	RSC-0086	GTAEAASASGGSEGGAATLVRGGAI PGSP
RSN-0087	GSAPGTPGGAAGLVRGGGA ATSGSETPGT	RSC-0087	GTAEAASASGGTPGGAAGLVRGGGA PGSP
RSN-0088	GSAPGASGGAADLVRGGEI ATSGSETPGT	RSC-0088	GTAEAASASGGASGGAADLVRGGEI PGSP
RSN-0089	GSAPGGTGGAGNLVRGGPA ATSGSETPGT	RSC-0089	GTAEAASASGGGTGGAGNLVRGGPA PGSP
RSN-0090	GSAPGEAGGAPNLVRGGSI ATSGSETPGT	RSC-0090	GTAEAASASGGEAGGAPNLVRGGSI PGSP
RSN-0091	GSAPGPGGGAVNLVRGGTA ATSGSETPGT	RSC-0091	GTAEAASASGGPGGGAVNLVRGGTA PGSP

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
RSN-0092	GSAPGSEGGALNLVRGGAI ATSGSETPGT	RSC-0092	GTAEAASASGGSEGGALNLVRGGAI PGSP
RSN-0093	GSAPGTPGGASNLVRGGGA ATSGSETPGT	RSC-0093	GTAEAASASGGTPGGASNLVRGGGA PGSP
RSN-0094	GSAPGASGGATNLVRGGEI ATSGSETPGT	RSC-0094	GTAEAASASGGASGGATNLVRGGEI PGSP
RSN-0095	GSAPGGTGGAQNLVRGGPA ATSGSETPGT	RSC-0095	GTAEAASASGGGTGGAQNLVRGGPA PGSP
RSN-0096	GSAPGEAGGAENLVRGGSI ATSGSETPGT	RSC-0096	GTAEAASASGGEAGGAENLVRGGSI PGSP
RSN-1517	GSAPEAGRSANHEPLGLVA TATSGSETPGT	RSC-1517	GTAEAASASGEAGRSANHEPLGLVA TPGSP
BSRS-A1	GSAPASGRSTNAGPSGLAG PATSGSETPGT	BSRS-A1	GTAEAASASGASGRSTNAGPSGLAG PPGSP
BSRS-A2	GSAPASGRSTNAGPQGLAG QATSGSETPGT	BSRS-A2	GTAEAASASGASGRSTNAGPQGLAG QPGSP
BSRS-A3	GSAPASGRSTNAGPPGLTG PATSGSETPGT	BSRS-A3	GTAEAASASGASGRSTNAGPPGLTG PPGSP
VP-1	GSAPASSRGTNAGPAGLTG PATSGSETPGT	VP-1	GTAEAASASGASSRGTNAGPAGLTG PPGSP
RSN-1752	GSAPASSRTTNTGPSTLTG PATSGSETPGT	RSC-1752	GTAEAASASGASSRTTNTGPSTLTG PPGSP
RSN-1512	GSAPAAGRSDNGTPLELVA PATSGSETPGT	RSC-1512	GTAEAASASGAAGRSDNGTPLELVA PPGSP
RSN-1517	GSAPEAGRSANHEPLGLVA TATSGSETPGT	RSC-1517	GTAEAASASGEAGRSANHEPLGLVA TPGSP
VP-2	GSAPASGRGTNAGPAGLTG PATSGSETPGT	VP-2	GTAEAASASGASGRGTNAGPAGLTG PPGSP
RSN-1018	GSAPLFGRNDNHEPLELGG GATSGSETPGT	RSC-1018	GTAEAASASGLFGRNDNHEPLELGG GPGSP
RSN-1053	GSAPTAGRSDNLEPLGLVF GATSGSETPGT	RSC-1053	GTAEAASASGTAGRSDNLEPLGLVF GPGSP
RSN-1059	GSAPLDGRSDNFHPPELVA GATSGSETPGT	RSC-1059	GTAEAASASGLDGRSDNFHPPELVA GPGSP
RSN-1065	GSAPLEGRSDNEEPENLVA GATSGSETPGT	RSC-1065	GTAEAASASGLEGRSDNEEPENLVA GPGSP
RSN-1167	GSAPLKGRSDNNAPLALVA GATSGSETPGT	RSC-1167	GTAEAASASGLKGRSDNNAPLALVA GPGSP
RSN-1201	GSAPVYSRGTNAGPHGLTG RATSGSETPGT	RSC-1201	GTAEAASASGVYSRGTNAGPHGLTG RPGSP
RSN-1218	GSAPANSRGTNKGFAGLIG PATSGSETPGT	RSC-1218	GTAEAASASGANSRGTNKGFAGLIG PPGSP
RSN-1226	GSAPASSRLTNEAPAGLTI PATSGSETPGT	RSC-1226	GTAEAASASGASSRLTNEAPAGLTI PPGSP
RSN-1254	GSAPDQSRGTNAGPEGLTD PATSGSETPGT	RSC-1254	GTAEAASASGDQSRGTNAGPEGLTD PPGSP
RSN-1256	GSAPESSRGTNIGQGGLTG PATSGSETPGT	RSC-1256	GTAEAASASGESSRGTNIGQGGLTG PPGSP
RSN-1261	GSAPSSSRGTNQDPAGLTI PATSGSETPGT	RSC-1261	GTAEAASASGSSSRGTNQDPAGLTI PPGSP
RSN-1293	GSAPASSRGQNHSPMGLTG PATSGSETPGT	RSC-1293	GTAEAASASGASSRGQNHSPMGLTG PPGSP
RSN-1309	GSAPAYSRGPNAGPAGLEG	RSC-1309	GTAEAASASGAYSRGPNAGPAGLEG

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
	RATSGSETPGT		RPGSP
RSN-1326	GSAPASERGNNAGPANLTG FATSGSETPGT	RSC-1326	GTAEAASASGASERGNNAGPANLTG FPGSP
RSN-1345	GSAPASHRGTNPKPAILTG PATSGSETPGT	RSC-1345	GTAEAASASGASHRGTNPKPAILTG PPGSP
RSN-1354	GSAPMSSRRTNANPAQLTG PATSGSETPGT	RSC-1354	GTAEAASASGMSSRRTNANPAQLTG PPGSP
RSN-1426	GSAPGAGRTDNHEPLELGA AATSGSETPGT	RSC-1426	GTAEAASASGGAGRTDNHEPLELGA APGSP
RSN-1478	GSAPLAGRSENTAPLELTA GATSGSETPGT	RSC-1478	GTAEAASASGLAGRSENTAPLELTA GPGSP
RSN-1479	GSAPLEGRPDNHEPLALVA SATSGSETPGT	RSC-1479	GTAEAASASGLEGRPDNHEPLALVA SPGSP
RSN-1496	GSAPLSGRSDNEEPLALPA GATSGSETPGT	RSC-1496	GTAEAASASGLSGRSDNEEPLALPA GPGSP
RSN-1508	GSAPEAGRTDNHEPLELSA PATSGSETPGT	RSC-1508	GTAEAASASGEAGRTDNHEPLELSA PPGSP
RSN-1513	GSAPEGGRSDNHGPLELVS GATSGSETPGT	RSC-1513	GTAEAASASGEGGRSDNHGPLELVS GPGSP
RSN-1516	GSAPLSGRSDNEAPLELEA GATSGSETPGT	RSC-1516	GTAEAASASGLSGRSDNEAPLELEA GPGSP
RSN-1524	GSAPLGGRADNHEPPELGA GATSGSETPGT	RSC-1524	GTAEAASASGLGGRADNHEPPELGA GPGSP
RSN-1622	GSAPPPSRGTNAEPAGLTG EATSGSETPGT	RSC-1622	GTAEAASASGPPSRGTNAEPAGLTG EPGSP
RSN-1629	GSAPASTRGENAGPAGLEA PATSGSETPGT	RSC-1629	GTAEAASASGASTRGENAGPAGLEA PPGSP
RSN-1664	GSAPESSRGTNGAPEGLTG PATSGSETPGT	RSC-1664	GTAEAASASGESSRGTNGAPEGLTG PPGSP
RSN-1667	GSAPASSRATNESPAGLTG EATSGSETPGT	RSC-1667	GTAEAASASGASSRATNESPAGLTG EPGSP
RSN-1709	GSAPASSRGENPPPGGLTG PATSGSETPGT	RSC-1709	GTAEAASASGASSRGENPPPGGLTG PPGSP
RSN-1712	GSAPAASRGTNTGPAELTG SATSGSETPGT	RSC-1712	GTAEAASASGAASRGTNTGPAELTG SPGSP
RSN-1727	GSAPAGSRTTNAGPGGLEG PATSGSETPGT	RSC-1727	GTAEAASASGAGSRTTNAGPGGLEG PPGSP
RSN-1754	GSAPAPSRGENAGPATLTG AATSGSETPGT	RSC-1754	GTAEAASASGAPSRGENAGPATLTG APGSP
RSN-1819	GSAPESGRAANTGPPTLTA PATSGSETPGT	RSC-1819	GTAEAASASGESGRAANTGPPTLTA PPGSP
RSN-1832	GSAPNPGRAANEGPPGLPG SATSGSETPGT	RSC-1832	GTAEAASASGNPGRAANEGPPGLPG SPGSP
RSN-1855	GSAPESSRAANLTPPELTG PATSGSETPGT	RSC-1855	GTAEAASASGESSRAANLTPPELTG PPGSP
RSN-1911	GSAPASGRAANETPPGLTG AATSGSETPGT	RSC-1911	GTAEAASASGASGRAANETPPGLTG APGSP
RSN-1929	GSAPNSGRGENLGAPGLTG TATSGSETPGT	RSC-1929	GTAEAASASGNSGRGENLGAPGLTG TPGSP
RSN-1951	GSAPTTGRAANLTPAGLTG PATSGSETPGT	RSC-1951	GTAEAASASGTTGRAANLTPAGLTG PPGSP
RSN-2295	GSAPEAGRSANHTPAGLTG PATSGSETPGT	RSC-2295	GTAEAASASGEAGRSANHTPAGLTG PPGSP

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
RSN-2298	GSAPESGRAANTTPAGLTG PATSGSETPGT	RSC-2298	GTAEAASASGESGRAANTTPAGLTG PPGSP
RSN-2038	GSAPTTGRATEAANLTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-2038	GTAEAASASGTTGRATEAANLTPAG LTGPPGSP
RSN-2072	GSAPTTGRAEEAANLTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-2072	GTAEAASASGTTGRAEEAANLTPAG LTGPPGSP
RSN-2089	GSAPTTGRAGEAANLTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-2089	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAG LTGPPGSP
RSN-2302	GSAPTTGRATEAANATPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-2302	GTAEAASASGTTGRATEAANATPAG LTGPPGSP
RSN-3047	GSAPTTGRAGEAEGATSAG ATGPATSGSETPGT	RSC-3047	GTAEAASASGTTGRAGEAEGATSAG ATGPPGSP
RSN-3052	GSAPTTGEAGEAANATSAG ATGPATSGSETPGT	RSC-3052	GTAEAASASGTTGEAGEAANATSAG ATGPPGSP
RSN-3043	GSAPTTGEAGEAAGLTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-3043	GTAEAASASGTTGEAGEAAGLTPAG LTGPPGSP
RSN-3041	GSAPTTGAAGEAANATPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-3041	GTAEAASASGTTGAAGEAANATPAG LTGPPGSP
RSN-3044	GSAPTTGRAGEAAGLTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-3044	GTAEAASASGTTGRAGEAAGLTPAG LTGPPGSP
RSN-3057	GSAPTTGRAGEAANATSAG ATGPATSGSETPGT	RSC-3057	GTAEAASASGTTGRAGEAANATSAG ATGPPGSP
RSN-3058	GSAPTTGEAGEAAGATSAG ATGPATSGSETPGT	RSC-3058	GTAEAASASGTTGEAGEAAGATSAG ATGPPGSP
RSN-2485	GSAPESGRAANTEPPELGA GATSGSETPGT	RSC-2485	GTAEAASASGESGRAANTEPPELGA GPGSP
RSN-2486	GSAPESGRAANTAPEGLTG PATSGSETPGT	RSC-2486	GTAEAASASGESGRAANTAPEGLTG PPGSP
RSN-2488	GSAPEPGRAANHEPSGLTE GATSGSETPGT	RSC-2488	GTAEAASASGEPGRAANHEPSGLTE GPGSP
RSN-2599	GSAPESGRAANHTGAPPGG LTGPATSGSETPGT	RSC-2599	GTAEAASASGESGRAANHTGAPPGG LTGPPGSP
RSN-2706	GSAPTTGRTGEGANATPGG LTGPATSGSETPGT	RSC-2706	GTAEAASASGTTGRTGEGANATPGG LTGPPGSP
RSN-2707	GSAPRTGRSGEAANETPEG LEGPATSGSETPGT	RSC-2707	GTAEAASASGRTGRSGEAANETPEG LEGPPGSP
RSN-2708	GSAPRTGRTGESANETPAG LGGPATSGSETPGT	RSC-2708	GTAEAASASGRTGRTGESANETPAG LGGPPGSP
RSN-2709	GSAPSTGRTGEPANETPAG LSGPATSGSETPGT	RSC-2709	GTAEAASASGSTGRTGEPANETPAG LSGPPGSP
RSN-2710	GSAPTTGRAGEPANATPTG LSGPATSGSETPGT	RSC-2710	GTAEAASASGTTGRAGEPANATPTG LSGPPGSP
RSN-2711	GSAPRTGRPGEGANATPTG LPGPATSGSETPGT	RSC-2711	GTAEAASASGRTGRPGEGANATPTG LPGPPGSP
RSN-2712	GSAPRTGRGGEAANATPSG LGGPATSGSETPGT	RSC-2712	GTAEAASASGRTGRGGEAANATPSG LGGPPGSP
RSN-2713	GSAPSTGRSGESANATPGG LGGPATSGSETPGT	RSC-2713	GTAEAASASGSTGRSGESANATPGG LGGPPGSP
RSN-2714	GSAPRTGRTGEEANATPAG LPGPATSGSETPGT	RSC-2714	GTAEAASASGRTGRTGEEANATPAG LPGPPGSP
RSN-2715	GSAPATGRPGEPANTTPEG LEGPATSGSETPGT	RSC-2715	GTAEAASASGATGRPGEPANTTPEG LEGPPGSP
RSN-2716	GSAPSTGRSGEPANATPGG	RSC-2716	GTAEAASASGSTGRSGEPANATPGG

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
	LTGPATSGSETPGT		LTGPPGSP
RSN-2717	GSAPPTGRGGEGANTTPTG LPGPATSGSETPGT	RSC-2717	GTAEAASASGPTGRGGEGANTTPTG LPGPPGSP
RSN-2718	GSAPPTGRSGEGANATPSG LTGPATSGSETPGT	RSC-2718	GTAEAASASGPTGRSGEGANATPSG LTGPPGSP
RSN-2719	GSAPTTGRASEGANSTPAP LTEPATSGSETPGT	RSC-2719	GTAEAASASGTTGRASEGANSTPAP LTEPPGSP
RSN-2720	GSAPTYGRAAEAANTTPAG LTAPATSGSETPGT	RSC-2720	GTAEAASASGTYGRAAEAANTTPAG LTAPPGSP
RSN-2721	GSAPTTGRATEGANATPAE LTEPATSGSETPGT	RSC-2721	GTAEAASASGTTGRATEGANATPAE LTEPPGSP
RSN-2722	GSAPTVGRASEEANTTPAS LTGPATSGSETPGT	RSC-2722	GTAEAASASGTVGRASEEANTTPAS LTGPPGSP
RSN-2723	GSAPTTGRAPEAANATPAP LTGPATSGSETPGT	RSC-2723	GTAEAASASGTTGRAPEAANATPAP LTGPPGSP
RSN-2724	GSAPTWGRATEPANATPAP LTSPATSGSETPGT	RSC-2724	GTAEAASASGTWGRATEPANATPAP LTSPPGSP
RSN-2725	GSAPTVGRASESANATPAE LTSPATSGSETPGT	RSC-2725	GTAEAASASGTVGRASESANATPAE LTSPPGSP
RSN-2726	GSAPTVGRAPEGANSTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-2726	GTAEAASASGTVGRAPEGANSTPAG LTGPPGSP
RSN-2727	GSAPTWGRATEAPNLEPAT LTTPATSGSETPGT	RSC-2727	GTAEAASASGTWGRATEAPNLEPAT LTTPPGSP
RSN-2728	GSAPTTGRATEAPNLTPAP LTEPATSGSETPGT	RSC-2728	GTAEAASASGTTGRATEAPNLTPAP LTEPPGSP
RSN-2729	GSAPTQGRATEAPNLSPAA LTSPATSGSETPGT	RSC-2729	GTAEAASASGTQGRATEAPNLSPAA LTSPPGSP
RSN-2730	GSAPTQGRAAEAPNLTPAT LTAPATSGSETPGT	RSC-2730	GTAEAASASGTQGRAAEAPNLTPAT LTAPPGSP
RSN-2731	GSAPTSGRAPEATNLAPAP LTGPATSGSETPGT	RSC-2731	GTAEAASASGTSGRAPEATNLAPAP LTGPPGSP
RSN-2732	GSAPTQGRAAEAANLTPAG LTEPATSGSETPGT	RSC-2732	GTAEAASASGTQGRAAEAANLTPAG LTEPPGSP
RSN-2733	GSAPTTGRAGSAPNLPPTG LTTPATSGSETPGT	RSC-2733	GTAEAASASGTTGRAGSAPNLPPTG LTTPPGSP
RSN-2734	GSAPTTGRAGGAENLPPEG LTAPATSGSETPGT	RSC-2734	GTAEAASASGTTGRAGGAENLPPEG LTAPPGSP
RSN-2735	GSAPTTSRAGTATNLTPEG LTAPATSGSETPGT	RSC-2735	GTAEAASASGTTSRAGTATNLTPEG LTAPPGSP
RSN-2736	GSAPTTGRAGTATNLPPSG LTTPATSGSETPGT	RSC-2736	GTAEAASASGTTGRAGTATNLPPSG LTTPPGSP
RSN-2737	GSAPTTARAGEAENLSPSG LTAPATSGSETPGT	RSC-2737	GTAEAASASGTTARAGEAENLSPSG LTAPPGSP
RSN-2738	GSAPTTGRAGGAGNLAPGG LTEPATSGSETPGT	RSC-2738	GTAEAASASGTTGRAGGAGNLAPGG LTEPPGSP
RSN-2739	GSAPTTGRAGTATNLPPEG LTGPATSGSETPGT	RSC-2739	GTAEAASASGTTGRAGTATNLPPEG LTGPPGSP
RSN-2740	GSAPTTGRAGGAANLAPTG LTEPATSGSETPGT	RSC-2740	GTAEAASASGTTGRAGGAANLAPTG LTEPPGSP
RSN-2741	GSAPTTGRAGTAENLAPSG LTTPATSGSETPGT	RSC-2741	GTAEAASASGTTGRAGTAENLAPSG LTTPPGSP
RSN-2742	GSAPTTGRAGSATNLGPGG LTGPATSGSETPGT	RSC-2742	GTAEAASASGTTGRAGSATNLGPGG LTGPPGSP

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
RSN-2743	GSAPTTARAGGAENLTPAG LTEPATSGSETPGT	RSC-2743	GTAEAASASGTTARAGGAENLTPAG LTEPPGSP
RSN-2744	GSAPTTARAGSAENLSPSG LTGPATSGSETPGT	RSC-2744	GTAEAASASGTTARAGSAENLSPSG LTGPPGSP
RSN-2745	GSAPTTARAGGAGNLAPEG LTTPATSGSETPGT	RSC-2745	GTAEAASASGTTARAGGAGNLAPEG LTTPPGSP
RSN-2746	GSAPTTSRAGAAENLTPTG LTGPATSGSETPGT	RSC-2746	GTAEAASASGTTSRAGAAENLTPTG LTGPPGSP
RSN-2747	GSAPTYGRTTTPGNEPPAS LEAEATSGSETPGT	RSC-2747	GTAEAASASGTYGRTTTPGNEPPAS LEAEPGSP
RSN-2748	GSAPTYSRGESGPNEPPPG LTGPATSGSETPGT	RSC-2748	GTAEAASASGTYSRGESGPNEPPPG LTGPPGSP
RSN-2749	GSAPAWGRTGASENETPAP LGGEATSGSETPGT	RSC-2749	GTAEAASASGAWGRTGASENETPAP LGGEPGSP
RSN-2750	GSAPRWGRAETTPNTPPEG LETEATSGSETPGT	RSC-2750	GTAEAASASGRWGRAETTPNTPPEG LETEPGSP
RSN-2751	GSAPESGRAANHTGAEPPE LGAGATSGSETPGT	RSC-2751	GTAEAASASGESGRAANHTGAEPPE LGAGPGSP
RSN-2754	GSAPTTGRAGEAANLTPAG LTESATSGSETPGT	RSC-2754	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAG LTESPGSP
RSN-2755	GSAPTTGRAGEAANLTPAA LTESATSGSETPGT	RSC-2755	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAA LTESPGSP
RSN-2756	GSAPTTGRAGEAANLTPAP LTESATSGSETPGT	RSC-2756	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAP LTESPGSP
RSN-2757	GSAPTTGRAGEAANLTPEP LTESATSGSETPGT	RSC-2757	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEP LTESPGSP
RSN-2758	GSAPTTGRAGEAANLTPAG LTGAATSGSETPGT	RSC-2758	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAG LTGAPGSP
RSN-2759	GSAPTTGRAGEAANLTPEG LTGAATSGSETPGT	RSC-2759	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEG LTGAPGSP
RSN-2760	GSAPTTGRAGEAANLTPEP LTGAATSGSETPGT	RSC-2760	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEP LTGAPGSP
RSN-2761	GSAPTTGRAGEAANLTPAG LTEAATSGSETPGT	RSC-2761	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAG LTEAPGSP
RSN-2762	GSAPTTGRAGEAANLTPEG LTEAATSGSETPGT	RSC-2762	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEG LTEAPGSP
RSN-2763	GSAPTTGRAGEAANLTPAP LTEAATSGSETPGT	RSC-2763	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAP LTEAPGSP
RSN-2764	GSAPTTGRAGEAANLTPEP LTEAATSGSETPGT	RSC-2764	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEP LTEAPGSP
RSN-2765	GSAPTTGRAGEAANLTPEP LTGPATSGSETPGT	RSC-2765	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEP LTGPPGSP
RSN-2766	GSAPTTGRAGEAANLTPAG LTGGATSGSETPGT	RSC-2766	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAG LTGGPGSP
RSN-2767	GSAPTTGRAGEAANLTPEG LTGGATSGSETPGT	RSC-2767	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEG LTGGPGSP
RSN-2768	GSAPTTGRAGEAANLTPEA LTGGATSGSETPGT	RSC-2768	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEA LTGGPGSP
RSN-2769	GSAPTTGRAGEAANLTPEP LTGGATSGSETPGT	RSC-2769	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEP LTGGPGSP
RSN-2770	GSAPTTGRAGEAANLTPAG LTEGATSGSETPGT	RSC-2770	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAG LTEGPGSP
RSN-2771	GSAPTTGRAGEAANLTPEG	RSC-2771	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEG

Название	Аминокислотная последовательность	Название	Аминокислотная последовательность
	LTEGATSGSETPGT		LTEGPGSP
RSN-2772	GSAPTTGRAGEAANLTPAP LTEGATSGSETPGT	RSC-2772	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPAP LTEGPGSP
RSN-2773	GSAPTTGRAGEAANLTPEP LTEGATSGSETPGT	RSC-2773	GTAEAASASGTTGRAGEAANLTPEP LTEGPGSP
RSN-3047	GSAPTTGRAGEAEGATSAG ATGPATSGSETPGT	RSC-3047	GTAEAASASGTTGRAGEAEGATSAG ATGPPGSP
RSN-2783	GSAPEAGRSAEATSAGATG PATSGSETPGT	RSC-2783	GTAEAASASGEAGRSAEATSAGATG PPGSP
RSN-3107	GSAPSASGTYSRGESGPGS PATSGSETPGT	RSC-3107	GTAEAASASGSASGTYSRGESGPGS PPGSP
RSN-3103	GSAPSASGEAGRTDTHPGS PATSGSETPGT	RSC-3103	GTAEAASASGSASGEAGRTDTHPGS PPGSP
RSN-3102	GSAPSASGEPGRAAEHPGS PATSGSETPGT	RSC-3102	GTAEAASASGSASGEPGRAAEHPGS PPGSP
RSN-3119	GSAPSPAGESSRGTTIAGS PATSGSETPGT	RSC-3119	GTAEAASASGSPAGESSRGTTIAGS PPGSP
RSN-3043	GSAPTTGEAGEAAGLTPAG LTGPATSGSETPGT	RSC-3043	GTAEAASASGTTGEAGEAAGLTPAG LTGPPGSP
RSN-2789	GSAPEAGESAGATPAGLTG PATSGSETPGT	RSC-2789	GTAEAASASGEAGESAGATPAGLTG PPGSP
RSN-3109	GSAPSASGAPLELEAGPGS PATSGSETPGT	RSC-3109	GTAEAASASGSASGAPLELEAGPGS PPGSP
RSN-3110	GSAPSASGEPPELGAGPGS PATSGSETPGT	RSC-3110	GTAEAASASGSASGEPPELGAGPGS PPGSP
RSN-3111	GSAPSASGEPSGLTEGPGS PATSGSETPGT	RSC-3111	GTAEAASASGSASGEPSGLTEGPGS PPGSP
RSN-3112	GSAPSASGTPAPLTEPPGS PATSGSETPGT	RSC-3112	GTAEAASASGSASGTPAPLTEPPGS PPGSP
RSN-3113	GSAPSASGTPAELTEPPGS PATSGSETPGT	RSC-3113	GTAEAASASGSASGTPAELTEPPGS PPGSP
RSN-3114	GSAPSASGPPPGLTGPPGS PATSGSETPGT	RSC-3114	GTAEAASASGSASGPPPGLTGPPGS PPGSP
RSN-3115	GSAPSASGTPAPLGGEPGS PATSGSETPGT	RSC-3115	GTAEAASASGSASGTPAPLGGEPGS PPGSP
RSN-3125	GSAPSPAGAPEGLTGPAGS PATSGSETPGT	RSC-3125	GTAEAASASGSPAGAPEGLTGPAGS PPGSP
RSN-3126	GSAPSPAGPPEGLETEAGS PATSGSETPGT	RSC-3126	GTAEAASASGSPAGPPEGLETEAGS PPGSP
RSN-3127	GSAPSPTSGQGGLTGPGSE PATSGSETPGT	RSC-3127	GTAEAASASGSPTSGQGGLTGPGSE PPGSP
RSN-3131	GSAPSESAPPEGLETESTE PATSGSETPGT	RSC-3131	GTAEAASASGSESAPPEGLETESTE PPGSP
RSN-3132	GSAPSEGSEPLELGAASET PATSGSETPGT	RSC-3132	GTAEAASASGSEGSEPLELGAASET PPGSP
RSN-3133	GSAPSEGSGPAGLEAPSET PATSGSETPGT	RSC-3133	GTAEAASASGSEGSGPAGLEAPSET PPGSP
RSN-3138	GSAPSEPTPPASLEAEPGS PATSGSETPGT	RSC-3138	GTAEAASASGSEPTPPASLEAEPGS PPGSP

[00208] В другом аспекте RS для включения в рассматриваемые рекомбинантные

полипептиды могут быть сконструированы таким образом, чтобы быть избирательно чувствительными, чтобы иметь разные скорости расщепления и разную эффективность расщепления для различных протеаз, для которых они являются субстратами. Поскольку указанная протеаза в пораженных тканях, включая опухоль, гемобластоз или воспалительную ткань или очаг воспаления, но не ограничиваясь перечисленным, может быть обнаружена в иных концентрациях нежели в здоровых тканях или в кровообращении, в изобретении предложены RS, которые имеют отдельные аминокислотные последовательности сконструированные так, чтобы иметь более высокую или более низкую эффективность расщепления данной протеазой, чтобы гарантировать, что рекомбинантный полипептид предпочтительно конвертируется из формы пролекарства в активную форму (то есть путем отделения и высвобождения связывающих группировок и XTEN из рекомбинантного полипептида после расщепления RS), когда он находится в непосредственной близости от ткани-мишени или клетки-мишени и ко-локализованных с ними протеаз по сравнению со скоростью расщепления RS в здоровой ткани или кровообращении, так что высвобождаемые связывающие группировки фрагмента антитела обладают большей способностью связываться с лигандами в пораженных тканях по сравнению с формой пролекарства, которая остается в циркуляции. Благодаря такому специальному дизайну терапевтический индекс полученных композиций может быть улучшен, что приводит к сокращению побочных эффектов по сравнению с обычными терапевтическими средствами, которые не имеют такой сайт-специфической активации.

[00209] В данном описании эффективность расщепления определяется как значение $\log_2$ отношения процентной доли расщепленного тестируемого субстрата, содержащего RS, к процентной доле расщепленного контрольного субстрата AC1611, когда каждый подвергается воздействию фермента протеазы в биохимических анализах (более подробно описано в примерах), где проводят реакцию, в которой начальная концентрация субстрата составляет 6 мкМ, реакции проводят при 37°C в течение 2 часов, а затем останавливают добавлением EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота), при этом количество продуктов расщепления и нерасщепленного субстрата анализируют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях, чтобы установить соотношение процентных долей расщепленных субстратов. Эффективность расщепления рассчитывают следующим образом:

$$Log_2\left(\frac{\%\ \text{расщепления для представляющего интерес субстрата}}{\%\ \text{расщепления для}\ AC1611\ \text{в том же эксперименте}}\right)$$

Таким образом, эффективность расщепления -1 означает, что количество расщепленного исследуемого субстрата было 50% по сравнению с количеством контрольного субстрата, в то время как эффективность расщепления +1 означает, что количество расщепленного исследуемого субстрата было 200% по сравнению с количеством контрольного субстрата. Более высокая скорость расщепления исследуемой протеазой относительно контроля приведет к более высокой эффективности расщепления, а более медленная скорость расщепления исследуемой протеазой относительно контроля приведет к более низкой эффективности расщепления. Как подробно описано в Примерах, установили, что контрольная последовательность RS AC1611 (RSR-1517), имеющая аминокислотную последовательность EAGRSANHEPLGLVAT, имеет соответствующую базовую эффективность расщепления протеазами легумаин, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-14, uPA и матриптазой, при исследовании скорости расщепления отдельными протеазами в биохимических анализах *in vitro*. Путем селективного замещения аминокислот в отдельных положениях в пептидах RS были созданы библиотеки RS и оценены по панели из 7 протеаз (более подробно в Примерах), что позволило получить профили, которые были использованы для выработки руководящих принципов для соответствующих аминокислотных замен для получения RS с желаемой эффективностью расщепления. При получении RS с желаемой эффективностью расщепления предпочтительными являются замены с использованием гидрофильных аминокислот A, E, G, P, S и T, однако в данных положениях могут быть замещены другие L-аминокислоты, чтобы сохранить некоторую чувствительность RS к расщеплению протеазой. Консервативные замены аминокислот в пептиде для сохранения или воздействия на активность хорошо известны специалистам в данной области техники. В одном воплощении изобретения предложен RS, который расщепляется протеазой, выбранной из легумаина, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазы, с эффективностью расщепления в биохимическом конкурентном анализе *in vitro* по меньшей мере на 0,2 $\log_2$, или 0,4 $\log_2$, или 0,8 $\log_2$, или 1,0 $\log_2$ или выше по сравнению с расщеплением той же протеазой контрольной последовательности RSR-1517, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT. В другом воплощении изобретения предложен RS, который расщепляется протеазой, выбранной из легумаина, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9,

MMP-1, MMP-14, uPA или матриптазы, с эффективностью расщепления в биохимическом конкурентном анализе *in vitro* по меньшей мере на 0,2 $\log_2$, или 0,4 $\log_2$, или 0,8 $\log_2$, или 1,0 $\log_2$ ниже по сравнению с расщеплением той же протеазой контрольной последовательности RSR-1517, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT. В одном воплощении изобретения предложен RS, у которого скорость расщепления протеазой, выбранной из легумаина, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой, по меньшей мере в 2 раза или по меньшей мере в 4 раза, или по меньшей мере в 8 раз, или по меньшей мере в 16 раз быстрее по сравнению с контрольной последовательностью RSR-1517, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT. В одном воплощении изобретения предложен RS, у которого скорость расщепления протеазой, выбранной из легумаина, MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой, по меньшей мере в 2 раза или по меньшей мере в 4 раза, или по меньшей мере в 8 раз, или по меньшей мере в 16 раз медленнее по сравнению с контрольной последовательностью RSR-1517, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT.

[00210] В другом аспекте изобретения предложена AAC, содержащая несколько RS, где каждая последовательность RS выбрана из группы последовательностей, указанных в Таблице 1, и RS связаны друг с другом 1 - 6 аминокислотами, выбранными из глицина, серина, аланина и треонина. В одном воплощении AAC содержит первый RS и второй RS, отличный от первого RS, где каждая последовательность RS выбрана из группы последовательностей, указанных в Таблице 1, и RS связаны друг с другом 1 - 6 аминокислотами, выбранными из глицина, серина, аланина и треонина. В другом воплощении AAC содержит первый RS, второй RS, отличный от первого RS, и третий RS, отличный от первого и второго RS, где каждая последовательность выбирается из группы последовательностей, указанных в Таблице 1, и первый, второй и третий RS связаны друг с другом 1 - 6 аминокислотами, выбранными из глицина, серина, аланина и треонина. В частности, предполагается, что множественные RS AAC могут быть сцеплены для образования последовательности, которая может расщепляться множеством протеаз с различными скоростями или эффективностями расщепления. В другом воплощении изобретения предложена AAC, содержащая RS1 и RS2, выбранные из группы последовательностей, указанных в Таблицах 1 и 2, и XTEN 1 и XTEN 2, выбранные из группы последовательностей, указанных в Таблицах 8 и 10, где RS1 слит между XTEN1 и

связывающими группировками, а RS2 слит между XTEN2 и связывающими группировками. Предполагается, что такие композиции будут более легко расщепляться пораженными тканями-мишенями, которые экспрессируют множество протеаз, по сравнению со здоровыми тканями или в нормальной циркуляции, в результате чего полученные фрагменты, несущие связывающие группировки, будут более легко проникать в ткань-мишень; например, опухоль, и обладать повышенной способностью связывать и соединять клетку-мишень и эффекторную клетку (или только клетку-мишень в случае AAC, сконструированной с одной связывающей группировкой).

Таблица 3. Протеазы тканей-мишеней

Класс протеаз	Протеаза
Металлопротеиназы	меприн
	неприлизин (CD10)
	PSMA
	BMP-1
	дизинтегрин и металлопротеиназа (ADAMs)
	ADAM8
	ADAM9
	ADAM10
	ADAM12
	ADAM15
	ADAM17 (TACE)
	ADAM19
	ADAM28 (MDC-L)
	ADAM с мотивами тромбоспондина (ADAMTS)
	ADAMTS1
	ADAMTS4
	ADAMTS5
	матриксные металлопротеиназы (MMPs)
	MMP-1 (коллагеназа 1)
	MMP-2 (желатиназа A)
	MMP-3 (стромелизин 1)
	MMP-7 (матрилизин 1)
	MMP-8 (коллагеназа 2)
	MMP-9 (желатиназа B)
	MMP-10 (стромелизин 2)
	MMP-11(стромелизин 3)
	MMP-12 (эластаза макрофагов)
	MMP-13 (коллагеназа 3)
	MMP-14 (MT1-MMP)
	MMP-15 (MT2-MMP)
	MMP-19
	MMP-23 (CA-MMP)
	MMP-24 (MT5-MMP)
	MMP-26 (матрилизин 2)

Класс протеаз	Протеаза
	MMP-27 (CMMP)
Цистеиновые протеазы	легумаин
	цистеиновые катепсины
	катепсин B
	катепсин C
	катепсин K
	катепсин L
	катепсин S
	катепсин X
Аспарагиновые протеазы	катепсин D
	катепсин E
	секретаза
Сериновые протеазы	урокиназа (uPA)
	тканевой активатор плазминогена (tPA)
	плазмин
	тромбин
	простат-специфический антиген (PSA, KLK3)
	нейтрофильная эластаза человека (HNE)
	эластаза
	триптаза
	трансмембранные сериновые протеазы II типа (TTSPs)
	DESC1
	гепсин (HPN)
	матриптаза
	матриптаза-2
	TMPRSS2
	TMPRSS3
	TMPRSS4 (CAP2)
	белок активации фибробластов (FAP)
	родственные калликреину пептидазы (семейство KLK)
	KLK4
	KLK5
	KLK6
	KLK7
	KLK8
	KLK10
	KLK11
	KLK13
	KLK14

[00211] RS по изобретению могут применяться для включения в рекомбинантные полипептиды, используемые в качестве терапевтических средств для лечения раковых заболеваний, аутоиммунных заболеваний, воспалительных заболеваний и других состояний, где желательна локальная активация рекомбинантного полипептида.

Композиции по настоящему изобретению удовлетворяют существующую потребность и превосходят используемые в качестве терапевтических средств стандартные антитела или биспецифические антитела, которые активны при инъекции, в одном или нескольких аспектах, включая увеличенный конечный период полувыведения, направленную доставку и улучшенное терапевтическое соотношение с пониженной токсичностью для здоровых тканей.

IV. Связывающие группировки

[00212] В другом аспекте данного изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие первую связывающую группировку (FBM), обладающую специфической аффинностью связывания с лигандом. В одном воплощении связывающая группировка выбрана из антитела, цитокина, интерлейкина, хемокина или их фрагмента. В другом воплощении связывающая группировка представляет собой клеточный рецептор или его фрагмент. В другом воплощении связывающая группировка представляет собой фрагмент антитела, обладающий аффинностью связывания с клеточным рецептором или маркером клетки-мишени.

[00213] В некоторых воплощениях изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, которые представляют собой ААС, содержащие первую связывающую группировку (FBM) и вторую связывающую группировку (SBM), каждая из которых обладает специфической аффинностью связывания с соответствующими лигандами. В некоторых воплощениях ААС содержит первую и вторую связывающую группировку, каждая из которых представляет собой фрагменты антитела. В таких композициях связывающая группировка, направленная против маркера клетки-мишени пораженной ткани, используется в комбинации со второй связывающей группировкой, направленной против маркера эффекторной клетки; таким образом, она является бифункциональной. В данном описании фрагмент антитела представляет собой фрагмент антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, который способен связываться, особенно специфически связываться, с лигандом-мишенью, представляющим интерес. В таких воплощениях фрагмент антитела может представлять собой вариабельные или гипервариабельные области легкой и/или тяжелой цепи антитела (VL, VH), вариабельные фрагменты (Fv), Fab'-фрагменты, F(ab')2 фрагменты, Fab-фрагменты, одноцепочечные антитела (scAb), одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), линейные антитела, однодоменное антитело, определяющие комплементарность области (CDR), доменные антитела (dAbs),

иммуноглобулины с однодоменной тяжелой цепью типа ВНН или BNAR, иммуноглобулины с однодоменной легкой цепью или другие полипептиды, известные в данной области, содержащие фрагмент антитела, способный связывать белки-мишени или эпитопы на белках-мишенях, ассоциированных с клеткой-мишенью или эффекторной клеткой, но не ограничиваются ими. VL и VH фрагментов антитела также могут находиться в конфигурации одноцепочечного диатела. В одном воплощении первая из двух связывающих группировок полипептида содержит фрагмент антитела, нацеленный на лиганд эффекторной клетки (такой как CD3, CD16, TCRa, TCRp, CD28 и тому подобное, но не ограничиваясь этим), и вторая связывающая группировка содержит фрагмент антитела, который имеет домен, нацеленный на заболевание (например, маркер клетки-мишени, продуцируемый пораженной тканью или клеткой).

[00214] Фрагменты антител, рассматриваемые в описании, могут происходить из антитела естественного происхождения или его фрагмента, не встречающегося в природе антитела или его фрагмента, гуманизированного антитела или его фрагмента, синтетического антитела или его фрагмента, гибридного антитела или его фрагмента или генно-инженерного антитела или его фрагмента. Способы получения антитела для заданного маркера-мишени хорошо известны в данной области техники. Например, моноклональные антитела могут быть получены с использованием гибридомного метода, впервые описанного Kohler et al., *Nature,* 256:495 (1975), или могут быть получены методами рекомбинантной ДНК (патент US 4816567). Структура антител и их фрагментов, вариабельные области тяжелой и легкой цепей антитела (VH и VL), одноцепочечные вариабельные области (scFv), определяющие комплементарность области (CDR) и доменные антитела (dAbs) хорошо известны. Способы получения полипептида, имеющего желаемую антигенсвязывающую группировку для маркера клетки-мишени, известны в данной области техники.

[00215] Терапевтические моноклональные антитела, из которых могут быть получены домены VL и VH, а также CDR для рассматриваемых композиций, известны в данной области техники. Такие терапевтические антитела включают ритуксимаб, IDEC/Genentech/Roche (см., например, патент US 5736137), химерное антитело против CD20, используемое для лечения многих лимфом, лейкозов и некоторых аутоиммунных заболеваний; офатумумаб, антитело против CD20, одобренное для применения при хроническом лимфоцитарном лейкозе и находящееся в стадии разработки для

фолликулярной неходжкинской лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, ревматоидного артрита и рецидивирующе-ремиттирующего рассеянного склероза, разработанное GlaxoSmithKline; люкатумумаб (HCD122), антитело против CD40, разработанное Novartis для неходжкинской лимфомы или лимфомы Ходжкина (см., например, патент US 6899879)? AME-133, антитело, которое связывается с клетками, экспрессирующими CD20, разработанное Applied Molecular Evolution для лечения неходжкинской лимфомы, велтузумаб (hA20), антитело, которое связывается с клетками, экспрессирующими CD20, разработанное Immunomedics, Inc. для лечения иммунной тромбоцитопенической пурпуры, HumaLYM, разработанное Intracel для лечения низкодифференцированной В-клеточной лимфомы, и окрелизумаб, который является моноклональным антителом против CD20, разработанным Genentech для лечения ревматоидного артрита (см., например, заявку на патент US 20090155257), трастузумаб (см., например, патент US № 5677171), гуманизированное антитело против HER2/neu, одобренное для лечения рака молочной железы, разработанное Genentech; пертузумаб, антитело к HER2, ингибирующее димеризацию, разработанное Genentech для лечения рака предстательной железы, молочной железы и яичников; (см., например, патент US № 4753894); цетуксимаб, анти-EGFR-антитело, используемое для лечения метастатического колоректального рака и рака головы и шеи, экспрессирующих рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) и KRAS дикого типа, разработанное Imclone и BMS (см. патент US 4934533; PCT WO 96/40210); панитумумаб, полностью человеческое моноклональное антитело, специфическое к рецептору эпидермального фактора роста (также известному как рецептор EGF, EGFR, ErbB-1 и HER1, в настоящее время продаваемое Amgen для лечения метастатического колоректального рака (см. патент US 6235883); залутумумаб, полностью человеческое моноклональное антитело IgG1, которое направлено против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), разработанное Genmab для лечения плоскоклеточного рака головы и шеи (см., например, патент US 7247301); нимотузумаб, а химерное антитело к EGFR, разработанное Biocon, YM Biosciences, Cuba и Oncosciences, Europe) для лечения плоскоклеточных карцином головы и шеи, рака носоглотки и глиомы (см., например, патент US № 5891996; патент US 6506883); матузумаб, гуманизированное моноклональное антитело, направленное против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), который был разработан Takeda Pharmaceutical для лечения колоректального рака, рака легких, пищевода и желудка (см., например, заявку на патент US 20090175858A1);

цетуксимаб, химерное (мышь/человек) моноклональное антитело, которое направлено против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и используется для лечения метастатического колоректального рака, метастатического немелкоклеточного рака легкого и рака головы и шеи, разработанного Bristol-Myers Squibb и Merck KGaA (см., например, патент US 6217866); алемтузумаб, гуманизированное моноклональное антитело к CD52, продаваемое Bayer Schering Pharma для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), кожной Т-клеточной лимфомы (CTCL) и Т-клеточной лимфомы; муромонаб-CD3, антитело против CD3, разработанное Ortho Biotech/Johnson & Johnson, используемое в качестве биологического иммунодепрессанта, применяемого для уменьшения острого отторжения у пациентов с трансплантацией органов; ибритумомаб тиуксетан, моноклональное антитело против CD20, разработанное IDEC/Schering AG для лечения некоторых форм неходжкинской В-клеточной лимфомы; гемтузумаб озогамицин, анти-CD33 (белок p67) антитело, связанное с цитотоксическим хелатором тиуксетан, к которому присоединен радиоактивный изотоп, разработанное Celltech/Wyeth, используемое для лечения острого миелогенного лейкоза; ABX-CBL, анти-CD147 антитело, разработанное Abgenix; ABX-IL8, антитело против IL8, разработанное Abgenix, ABX-MA1, антитело против MUC18, разработанное Abgenix, пемтумомаб (R1549, 90Y-muHMFGl), анти-MUC1, разработанное Antisoma, Therex (R1550), антитело против MUC1, разработанное Antisoma, AngioMab (AS 1405), разработанное Antisoma, HuBC-1, разработанное Antisoma, тиоплатин (AS 1407), разработанное Antisoma, ANTEGREN (натализумаб), антитело против альфа-4-бета-1 (VLA4) и альфа-4-бета-7, разработанное Biogen, моноклональное антитело против интегрина VLA-1, разработанное Biogen, моноклональное антитело против бета-рецептора лимфотоксина (LTBR), разработанное Biogen, CAT-152, антитело против TGF-β2, разработанное Cambridge Antibody Technology, J695, антитело против IL-12, разработанное Cambridge Antibody Technology и Abbott, CAT-192, антитело против TGFβ1, разработанное Cambridge Antibody Technology и Genzyme, CAT-213, антитело против эотаксина 1, разработанное Cambridge Antibody Technology, LYMPHOSTAT-B, антитело против Blys, разработанное Cambridge Antibody Technology и Human Genome Sciences Inc., TRAIL-R1mAb, антитело против TRAIL-R1, разработанное Cambridge Antibody Technology и Human Genome Sciences, Inc.; герцептин, антитело семейства рецепторов HER, разработанное Genentech; анти-тканевой фактор (ATF), антитело против тканевого фактора, разработанное Genentech; Xolair (омализумаб),

анти-IgE антитело, разработанное Genentech, антитело MLN-02 (ранее LDP-02), разработанное Genentech и Millennium Pharmaceuticals; HuMax CD4®, антитело против CD4, разработанное Genmab; тоцилизумаб и антитело против IL6R, разработанное Chugai; HuMax-IL15, антитело против IL15, разработанное Genmab и Amgen, HuMax-Inflam, разработанное Genmab и Medarex; HuMax-Cancer, антитело против гепараназы I, разработанное Genmab, Medarex и Oxford GlycoSciences; HuMax-лимфома, разработанное Genmab и Amgen, HuMax-TAC, разработанное Genmab; IDEC-131, антитело против CD40L, разработанное IDEC Pharmaceuticals; IDEC-151 (Кленоликсимаб), антитело против CD4, разработанное IDEC Pharmaceuticals; IDEC-14, антитело против CD80, разработанное IDEC Pharmaceuticals; IDEC-15, антитело к CD23, разработанное IDEC Pharmaceuticals; антитело против KDR, разработанное Imclone, DC101, антитело против flk-1, разработанное Imclone; антитела против VE-кадгерина, разработанные Imclone; CEA-CIDE (лабетузумаб), антитело против раковоэмбрионального антигена (CEA), разработанное Immunomedics; Yervoy (ипилимумаб), антитело против CTLA4, разработанное Bristol-Myers Squibb для лечения меланомы; люмфоцид® (эпратузумаб), антитело против CD22, разработанное Immunomedics, AFP-Cide, разработанное Immunomedics; MyelomaCide, разработанный Immunomedics; LkoCide, разработанное Immunomedics; ProstaCide, разработанное Immunomedics; MDX-010, антитело против CTLA4, разработанное Medarex; MDX-060, анти-CD30 антитело, разработанное Medarex; MDX-070, разработанное Medarex; MDX-018, разработанное Medarex; OSIDEM (IDM-1), антитело против HER2, разработанное Medarex и Immuno-Designed Molecules; HuMax®-CD4, антитело против CD4, разработанное Medarex и Genmab; HuMax-IL15, антитело против IL15, разработанное Medarex и Genmab; антитела против молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) (CD54), разработанные MorphoSys, MOR201; тремелимумаб, антитело против CTLA-4, разработанное Pfizer; визилизумаб, антитело против CD3, разработанное Protein Design Labs; антитело против интегрина a5β1, разработанное Protein Design Labs; антитело к IL-12, разработанное Protein Design Labs; ING-1, антитело против Ep-CAM, разработанное Xoma; и MLN01, антитело против бета2-интегрина, разработанное Xoma, но не ограничиваются ими; все вышеупомянутые ссылки на антитела в этом параграфе включены в настоящее описание путем ссылки. Последовательности для вышеуказанных антител могут быть получены из общедоступных баз данных, патентов или процитированных документов. Кроме того, неограничивающие примеры

моноклональных антител и последовательностей VH и VL (и, в некоторых случаях, с указанными последовательностями CDR) из антител против CD3 представлены в Таблице 4, а неограничивающие примеры моноклональных антител и последовательностей VH и VL (и, в некоторых случаях, с указанными последовательностями CDR) к раковым, опухолевым маркерам или маркерам клетки-мишени представлены в Таблице 5.

[00216] В определенных случаях определяющие комплементарность области тяжелой цепи и/или легкой цепи фрагмента антитела, направленного на эффекторные клетки, который должен быть включен в композиции AAC по настоящему изобретению, получены из известных антител против CD3, например, таких как муромонаб-CD3 (OKT3), отеликсизумаб (TRX4), теплизумаб (MGA031), визилизумаб (Нувион), SP-34 или I2C, TR-66 или X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, Fl 11-409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, OKT3D, M-T301, SMC2, F101.01, UCHT-1 и WT-31. В некоторых воплощениях связывающая эффекторные клетки группировка AAC по данному изобретению представляет собой одноцепочечный фрагмент антитела, содержащий спаренные последовательности VL и VH, указанные в Таблице 4. В предшествующем воплощении VL и VH связаны длинными линкерами гидрофильных аминокислот, выбранными из последовательностей, указанных в Таблице 6, и scFv связаны вместе коротким линкером гидрофильных аминокислот, выбранных из группы последовательностей, указанных в Таблице 7. В одном воплощении длинный линкер, используемый для связывания VL и VH, представляет собой L7 из Таблицы 6, а межмолекулярный линкер, который объединяет два scFv, представляет собой S-1 или S-2 из Таблицы 7. В другом воплощении изобретения предложены композиции AAC, содержащие одноцепочечное диатело, в котором после укладки первый домен (VL или VH) спаривается с последним доменом (VH или VL) с образованием одного scFv, и два домена в середине спариваются с образованием другого scFv, в котором первый и второй домены, а также третий и последний домены слиты вместе коротким линкером гидрофильных аминокислот, выбранных из последовательностей, указанных в Таблице 7, и второй и третий вариабельные домены слиты длинным линкером, выбранным из Таблицы 6. Как будет понятно специалисту в данной области техники, выбор короткого линкера и длинного линкера должен предотвращать неправильное спаривание смежных вариабельных доменов, тем самым облегчая формирование конфигурации

одноцепочечного диатела, содержащего VL и VH первой связывающей группировки и второй связывающей группировки.

Таблица 4. Моноклональные антитела к CD3 и последовательности

Название клона	Название антитела	Мишень	Последовательность VH	Последовательность VL
huOKT3		CD3	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKAS**GYTFTRYTMH**WVRQAPGKGLEWIG**YINPSRGYTNYNQKVKD**RFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**YYDDHYCLDY**WGQGTPVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**SASSSVSYMN**WYQQTPGKAPKRWIY**DTSKLAS**GVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYC**QQWSSNPFT**FGQGTKLQITR
huUCHT1		CD3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GYSFTGYTMN**WVRQAPGKGLEWVA**LINPYKGVST**YNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**SGYYGDSDWYFDV**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDIRNYLN**WYQQKPGKAPKLLIY**YTSRLES**GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC**QQGNTLPWT**FGQGTKVEIK
hu12F6		CD3	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKAS**GYTFTSYTMH**WVRQAPGKGLEWIG**YINPSSGYTKYNQKFKD**RFTISADKSKSTAFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**WQDYDVYFDY**WGQGTPVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTMTC**RASSSVSYMH**WYQQTPGKAPKPWIY**ATSNLAS**GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDIATYYC**QQWSSNPPT**FGQGTKLQITR
mOKT3		CD3	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKAS**GYTFTRYTMH**WVKQRPGQGLEWIG**YINPSRGYTNYNQKFKD**KATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR**YYDDHYCLDY**WGQGTTLTVSS	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC**SASSSVSYMN**WYQQKSGTSPKRWIY**DTSKLAS**GVPAHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYC**QQWSSNPFT**FGSGTKLEINR
MT103	блинатумомаб	CD3	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTS**GYTFTRYTMH**WVKQRPGQGLEWIG**YINPSRGYTNYNQKFKD**KATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR**YYDDHYCLDY**WGQGTTLTVSS	DIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTC**RASSSVSYMN**WYQQKSGTSPKRWIY**DTSKVAS**GVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC**QQWSSNPLT**FGAGTKLELK
MT110	солитомаб	CD3	DVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTRYTMH**WVRQAPGQGLEWIG**YINPSRGYTNYADSVKG**RFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCAR**YYDDHYCLDY**WGQGTTVTVSS	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSYMN**WYQQKPGKAPKRWIY**DTSKVAS**GVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYC**QQWSSNPLT**FGGGTKVEIK
CD3.7		CD3	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
CD3.8		CD3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNW	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNY

Название клона	Название антитела	Мишень	Последовательность VH	Последовательность VL
			VRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLVTVSS	ANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGVPARFSGSL LGGKAALTLSGAQPEDE AEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL
CD3.9		CD3	EVQLLESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLVTVSS	ELVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSL LGGKAALTLSGVQPEDE AEYYCALWYSNLWVFGG GTKLTVL
CD3.10		CD3	EVKLLESGGGLVQPKGSL KLSCAASGFTFNTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSQSILYLQMNNLKT EDTAMYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLVTVSS	QAVVTQESALTTSPGET VTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQEKPDHLFTGLIG GTNKRAPGVPARFSGSL IGDKAALTITGAQTEDE AIYFCALWYSNLWVFGG GTKLTVL

* подчеркнутые последовательности, если они присутствуют, представляют собой CDR в составе VL и VH

Таблица 5. Моноклональные антитела к клеткам-мишеням и последовательности

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
Tysabri™	натализумаб	Интегрин альфа 4	QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGFNIK**DTYIH**W VRQAPGQRLEWMG**RIDPA** **NGYTKYDPKFQG**RVTITA DTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCAR**EGYYGNYGVY** **AMDY**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**KTSQDINKYMA**WY QQTPGKAPRLLIH**YTSAL** **Q**PGIPSRFSGSGSGRDYT FTISSLQPEDIATYYC**LQ** **YDNLWT**FGQGTKVEIK
REGN910	несвакумаб	Ang2	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GFTFSSYDIH**W VRQATGKGLEWVSAI**GPA** **GDTYYPGSV**KGRFTISRE NAKNSLYLQMNSLRAGDT AVYYCAR**GLITFGGLIAP** **FD**YWGQGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRA**SQSVSSTYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GASS** **RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q** **HYDNSQ**TFGQGTKVEIK
hMFE23		CEA	QVKLEQSGAEVVKPGASV KLSCKAS**GFNIKDS**YMHW LRQGPGQRLEWIGWI**DPE** **NGD**TEYAPKFQGKATFTT DTSANTAYLGLSSLRPED TAVYYCNEG**TPTGPYYFD** YWGQGTLVTVSS	ENVLTQSPSSMSASVGDR VNIACSA**SSSVS**YMHWFQ QKPGKSPKLWIYSTSN**LA** **S**GVPSRFSGSGSGTDYSL TISSMQPEDAATYYCQQ**R** **SSYPL**TFGGGTKLEIK
M5A (гуманизированное T84.66)		CEA	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIK**DTYMH**W VRQAPGKGLEWVA**RIDPA**	DIQLTQSPSSLSASVGDR VTITC**RAGESVDIFGVGF** **LH**WYQQKPGKAPKLLIY**R**

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			NGNSKYADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCAPFGYYVSDYAM AYWGQGTLVTVSS	ASNLESGVPSRFSGSGSR TDFTLTISSLQPEDFATY YCQQTNEDPYTFGQGTKV EIK
M5B (гуманизированное T84.66)		CEA	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYMHW VRQAPGKGLEWVARIDPA NGNSKYVPKFQGRATISA DTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCAPFGYYVSDYAM AYWGQGTLVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDR VTITCRAGESVDIFGVGF LHWYQQKPGKAPKLLIYR ASNLESGVPSRFSGSGSR TDFTLTISSLQPEDFATY YCQQTNEDPYTFGQGTKV EIK
CEA-Cide	лабетузумаб (MN-14)	CEACAM5	EVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCSASGFDFTTYWMSW VRQAPGKGLEWIGEIHPD SSTINYAPSLKDRFTISR DNAKNTLFLQMDSLRPED TGVYFCASLYFGFPWFAY WGQGTPVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDR VTITCKASQDVGTSVAWY QQKPGKAPKLLIYWTSTR HTGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYYCQQ YSLYRSFGQGTKVEIK
CEA-Scan	аркитумомаб	CEACAM5	EVKLVESGGGLVQPGGSL RLSCATSGFTFTDYYMNW VRQPPGKALEWLGFIGNK ANGYTTEYSASVKGRFTI SRDKSQSILYLQMNTLRA EDSATYYCTRDRGLRFYF DYWGQGTTLTVSS	QTVLSQSPAILSASPGEK VTMTCRASSSVTYIHWYQ QKPGSSPKSWIYATSNLA SGVPARFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYCQHW SSKPPTFGGGTKLEIKR
MT110		CEACAM5	EVQLVESGGGLVQPGRSL RLSCAASGFTVSSYWMHW VRQAPGKGLEWVGFIRNK ANGGTTEYAASVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDRGLRFYF DYWGQGTTVTVSS	QAVLTQPASLSASPGASA SLTCTLRRGINVGAYSIY WYQQKPGSPPQYLLRYKS DSDKQQGSGVSSRFSASK DASANAGILLISGLQSED EADYYCMIWHSGASAVFG GGTKLTVL
MT103	блинатумомаб	CD19	QVQLQQSGAELVRPGSSV KISCKASGYAFSSYWMNW VKQRPGQGLEWIGQIWPG DGDTNYNGKFKGKATLTA DESSSTAYMQLSSLASED SAVYFCARRETTTVGRYY YAMDYWGQGTTVTVSS	DIQLTQSPASLAVSLGQR ATISCKASQSVDYDGDSY LNWYQQIPGQPPKLLIYD ASNLVSGIPPRFSGSGSG TDFTLNIHPVEKVDAATY HCQQSTEDPWTFGGGTKL EIK
Arzerra	офатумумаб	CD20	EVQLVESGGGLVQPGRSL RLSCAASGFTFNDYAMHW VRQAPGKGLEWVSTISWN SGSIGYADSVKGRFTISR DNAKKSLYLQMNSLRAED TALYYCAKDIQYGNYYYG MDVWGQGTTVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPITFGQGTRLEIK
Bexxar™	тозитумомаб	CD20	QAYLQQSGAELVRPGASV KMSCKASGYTFTSYNMHW VKQTPRQGLEWIGAIYPG NGDTSYNQKFKGKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCARVVYYSNSYWY	QIVLSQSPAILSASPGEK VTMTCRASSSVSYMHWYQ QKPGSSPKPWIYAPSNLA SGVPARFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYCQQW SFNPPTFGAGTKLELK

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			FDVWGTGTTVTVSG	
GAZYVA	обинутузумаб	CD20	QVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGYAFS**YSWIN**W VRQAPGQGLEWMG**RIFPG DGDTDYNGKFKG**RVTITA DKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR**NVFDGYWLVY** WGQGTLVTVSS	DIVMTQTPLSLPVTPGEP ASISC**RSSKSLLHSNGIT YLY**WYLQKPGQSPQLLIY **QMSNLVS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**AQNLELPYT**FGGGTK VEIK
	окрелизумаб/ 2H7 v16	CD20	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GYTFTSYN**MHW VRQAPGKGLEWVGA**IYPG NGDT**SYNQKFKGRFTISV DKSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR**VVYYSNSYWY FDV**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RASSSVSYMH**WYQ QKPGKAPKPLIY**APSNLA S**GVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYC**QQW SFNPPT**FGQGTKVEIK
Rituxan™	ритуксимаб	CD20	QVQLQQPGAELVKPGASV KMSCKAS**GYTFTSYN**MHW VKQTPGRGLEWIGA**IYPG NGDT**SYNQKFKGKATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYC**ARSTYYGGDWYF NV**WGAGTTVTVSA	QIVLSQSPAILSASPGEK VTMTCRAS**SSVSY**IHWFQ QKPGSSPKPWIY**ATS**NLA SGVPVRFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYC**QQW TSNPPT**FGGGTKLEIK
Zevalin™	Ибритумомаб тиуксетан	CD20	QAYLQQSGAELVRPGASV KMSCKAS**GYTFTSYN**MHW VKQTPRQGLEWIG**AIYPG NGDTSYNQKF**KGKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCAR**VVYYSNSYWY FDV**WGTGTTVTVSA	QIVLSQSPAILSASPGEK VTMTC**RASSSVSYMH**WYQ QKPGSSPKPWIY**APSNLA S**GVPARFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYC**QQW SFNPPT**FGAGTKLELK
Mylotarg	гемтузумаб (hP67.6)	CD33	QLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS**GYTITDSNIH**WVR QAPGQSLEWIG**YIYPYNG GTDYNQKFKN**RATLTVDN PTNTAYMELSSLRSEDTD FYYCVN**GNPWLAY**WGQGT LVTVSS	DIQLTQSPSTLSASVGDR VTITC**RASESLDNYGIRF LT**WFQQKPGKAPKLLMY**A ASNQGS**GVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLQPDDFATY YC**QQTKEVPWS**FGQGTKV EVK
Daratumumab		CD38	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAVS**GFTFNSFA**MSW VRQAPGKGLEWVSA**ISGS GGGT**YYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYFC**AKDKILWFGEPV FDY**WGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRAS**QSVSSY**LAWY QQKPGQAPRLLIY**DAS**NR ATGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYC**QQ RSNWPPT**FGQGTKVEIK
	1F6	CD70	QIQLVQSGPEVKKPGETV KISCKAS**GYTFTNYGMN**W VKQAPGKGLKWMG**WINTY TGEPTYADAFKG**RFAFSL ETSASTAYLQINNLKNED TATYFCAR**DYGDYGMDY**W GQGTSVTVSS	DIVLTQSPASLAVSLGQR ATISC**RASKSVSTSGYSF MH**WYQQKPGQPPKLLIY**L ASNLES**GVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATY YC**QHSREVPWT**FGGGTKL EIK
	2F2	CD70	QVQLQQSGTELMTPGASV	DIVLTQSPASLTVSLGQK

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			TMSCKTSGYTFSTYWIEW VKQRPGHGLEWIGEILGP SGYTDYNEKFKAKATFTA DTSSNTAYMQLSSLASED SAVYYCARWDRLYAMDYW GGGTSVTVSS	TTISCRASKSVSTSGYSF MHWYQLKPGQSPKLLIYL ASDLPSGVPARFSGSGSG TDFTLKIHPVEEEDAATY YCQHSREIPYTFGGGTKL EIT
	2H5	CD70	QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFSSYIMHW VRQAPGKGLEWVAVISYD GRNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDTDGYDFDYW GQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQ RTNWPLTFGGGTKVEIK
	10B4	CD70	QIQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFGYYAMHW VRQAPGKGLEWVAVISYD GSIKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAREGPYSNYLDY WGQGTLVTVSS	AIQLTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQGISSALAWY QQKPGKAPKFLIYDASSL ESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQ FNSYPFTFGPGTKVDIK
	8B5	CD70	QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCATSGFTFSDYGMHW VRQAPGKGLEWVAVIWYD GSNKYYADSVKGRFTISR DNSKKTLSLQMNSLRAED TAVYYCARDSIMVRGDYW GQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQ YNSYPLTFGGGTKVEIK
	18E7	CD70	QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFSDHGMHW VRQAPGKGLEWVAVIWYD GSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSIMVRGDYW GQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQ YNSYPLTFGGGTKVEIK
	69A7	CD70	QVQLQESGPGLVKPSETL SLTCTVSGGSVSSDYYYW SWIRQPPGKGLEWLGYIY YSGSTNYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLRSVTTA DTAVYYCARGDGDYGGNC FDYWGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIFDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPLTFGGGTKVEIK
CE-355621		cMET	QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTSYGFSW VRQAPGQGLEWMGWISAS NGNTYYAQKLQGRVTMTT DTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCARVYADYADYWG QGTLVTVSS	DIQMTQSPSSVSASVGDR VTITCRASQGINTWLAWY QQKPGKAPKLLIYAASSL KSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQ ANSFPLTFGGGTKVEIK
LY2875358	эмибетузумаб	cMET	QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTDYYMHW VRQAPGQGLEWMGRVNPN RRGTTYNQKFEGRVTMTT	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCSVSSSVSSIYLHW YQQKPGKAPKLLIYSTSN LASGVPSRFSGSGSGTDF

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			DTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYC**ARANWLDY**WGQG TTVTVSS	TLTISSLQPEDFATYYC**Q VYSGYPLT**FGGGTKVEIK
MetMAb	онартузумаб	cMET	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYTFT**SYWLH**W VRQAPGKGLEWVG**MIDPS NSDTRFNPNFKD**RFTISA DTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYC**ATYRSYVTPLDY** WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**KSSQSLLYTSSQK NYLA**WYQQKPGKAPKLLI Y**WASTRES**GVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFA TYYC**QQYYAYPWT**FGQGT KVEIK
	тремелимумаб (CP-675206, или 11.2.1)	CTLA4	QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAAS**GFTFSSYGMH**W VRQAPGKGLEWVA**VIWYD GSNKYYADSV**KGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR**DPRGATLYYY YYGMDV**WGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RASQSINSYLD**WY QQKPGKAPKLLIY**AASSL QS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQ YYSTPFT**FGPGTKVEIK
Yervoy	ипилимумаб 10D1	CTLA4	QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFS**SYTMH**W VRQAPGKGLEWVT**FISYD GNNKYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAIYYCAR**TGWLGPFDY**W GQGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSC**RASQSVGSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GAFS RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSSPWT**FGQGTKVEIK
AGS16F	H16-7.8	ENPP3	QVQLQESGPGLVKPSQTL SLTCTVSGGSIS**SGGYY**W SWIRQHPGKGLEWIG**IIY YSGSTYYNPSLKS**RVTIS VDTSKNQFSLKLNSVTAA DTAVFYCAR**VAIVTTIPG GMDV**WGQGTTVTVSS	EIVLTQSPDFQSVTPKEK VTITC**RASQSIGISLH**WY QQKPDQSPKLLIK**YASQS FS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTINSLEAEDAATYYC**HQ SRSFPWT**FGQGTKVEIK
MT110	солитомаб	EpCAM	EVQLLEQSGAELVRPGTS VKISCKASGYAFT**NYWLG** WVKQRPGHGLEWIG**DIFP GSGNIHYNEKFKG**KATLT ADKSSSTAYMQLSSLTFE DSAVYFCAR**LRNWDEPMD Y**WGQGTTVTVSS	ELVMTQSPSSLTVTAGEK VTMSC**KSSQSLLNSGNQK NYLT**WYQQKPGQPPKLLI Y**WASTRES**GVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDLA VYYC**QNDYSYPLT**FGAGT KLEIK
MT201	адекатумумаб	EpCAM	EVQLLESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFS**SYGMH**W VRQAPGKGLEWVA**VISYD GSNKYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAK**DMGWGSGWRP YYYYGMDV**WGQGTTVTVS S	ELQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RTSQSISSYLN**WY QQKPGQPPKLLIY**WASTR ES**GVPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDSATYYC**QQ SYDIPYT**FGQGTKLEIK
Panorex	эдреколомаб Mab CO17-1A	EpCAM	QVQLQQSGAELVRPGTSV KVSCKAS**GYAFTNYL**IEW VKQRPGQGLEWIGV**INPG SGGT**NYNEKFKGKATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSDD SAVYFC**ARDGPWFAY**WGQ	NIVMTQSPKSMSMSVGER VTLTCKAS**ENVVTY**VSWY QQKPEQSPKLLIY**GAS**NR YTGVPDRFTGSGSATDFT LTISSVQAEDLADYHC**GQ GYSYPYT**FGGGTKLEIK

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			GTLVTVSA	
	тукотузумаб	EpCAM	QIQLVQSGPELKKPGETV KISCKAS**GYTFTNYGMN**W VRQAPGKGLKWMG**WINTY TGEPTYAD**DFKGRFVFSL ETSASTAFLQLNNLRSED TATYFCVRFI**SKGDY**WGQ GTSVTVSS	QILLTQSPAIMSASPGEK VTMTC**SASSSVS**YMLWYQ QKPGSSPKPWIF**DTSNLA S**GFPARFSGSGSGTSYSL IISSMEAEDAATYYC**HQR SGYPYT**FGGGTKLEIK
UBS-54		EpCAM	VQLQQSDAELVKPGASVK ISCKAS**GYTFTDHAIH**WV KQNPEQGLEWIG**YFSPGN DDFKYNE**RFKGKATLTAD KSSSTAYVQLNSLTSEDS AVYFCTR**SLNMAY**WGQGT SVTVSS	DIVMTQSPDSLAVSLGER ATINC**KSSQSVLYSSNNK NYLA**WYQQKPGQPPKLLI Y**WASTRES**GVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVA VYYC**QQYYSYPLT**FGGGT KVKES
3622W94	323/A3	EpCAM	EVQLVQSGPEVKKPGASV KVSCKAS**GYTFTNYGMN**W VRQAPGQGLEWMG**WINTY TGEPTYGE**DFKGRFAFSL DTSASTAYMELSSLRSED TAVYFCARFG**NYVDY**WGQ GSLVTVSS	DIVMTQSPLSLPVTPGEP ASISC**RSSINKKGSNGIT Y**LYWYLQKPGQSPQLLIY QMSNLASGVPDRF**SGSGS** GTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**AQNLEIPRT**FGQGTK VEIK
4D5MOCBv2		EpCAM	EVQLVQSGPGLVQPGGSV RISCAASGYTFT**NYGMN**W VKQAPGKGLEWMG**WINTY TGESTYADSFKG**RFTFSL DTSASAAYLQINSLRAED TAVYYCAR**FAIKGD**YWGQ GTLLTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RSTKSLLHSNGIT YLY**WYQQKPGKAPKLLIY **QMSNLAS**GVPSRFSSSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**AQNLEIPRT**FGQGTK VEIK
4D5MOCB		EpCAM	EVQLVQSGPGLVQPGGSV RISCAASGYTFT**NYGMN**W VKQAPGKGLEWMG**WINTY TGESTYADSFKG**RFTFSL DTSASAAYLQINSLRAED TAVYYCAR**FAIKGDY**WGQ GTLLTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RSTKSLLHSNGIT YLY**WYQQKPGKAPKLLIY **QMSNLAS**GVPSRFSSSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYC**AQNLEIPRT**FGQGTK VELK
MEDI-547	1C1	EphA2	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFS**HYMMA**W VRQAPGKGLEWVS**RIGPS GGPTHYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAGYDSG**YDYVAV AGPAEYFQH**WGQGTLVTV SS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RASQSISTWLA**WY QQKPGKAPKLLIY**KASNL HT**GVPSRFSGSGSGTEFS LTISGLQPDDFATYYC**QQ YNSYSRT**FGQGTKVEIK
MORAb-003	фарлетузумаб	FOLR1	EVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCSAS**GFTFSGYG**LSW VRQAPGKGLEWVAM**ISSG GSYT**YYADSVKGRFAISR DNAKNTLFLQMDSLRPED TGVYFC**ARHGDDPAWF**AY WGQGTPVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDR VTITCSVS**SSISSNN**LHW YQQKPGKAPKPWIY**GTS**N LASGVPSRFSGSGSGTDY TFTISSLQPEDIATYYC**Q QWSSYPYMYT**FGQGTKVE IK
M9346A	huMOV19	FOLR1	QVQLVQSGAEVVKPGASV	DIVLTQSPLSLAVSLGQP

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
	(vLCv1.00)		KISCKASGYTFT**GYFMN**W VKQSPGQSLEWIG**RIHPY DGDTFYNQKFQG**KATLTV DKSSNTAHMELLSLTSED FAVYYCTR**YDGSRAMDY**W GQGTTVTVSS	AIISC**KASQSVSFAGTSL MH**WYHQKPGQQPRLLIY**R ASNLEA**GVPDRFSGSGSK TDFTLNISPVEAEDAATY YC**QQSREYPYT**FGGGTKL EIK
M9346A	huMOV19 (vLCv1.60)	FOLR1	QVQLVQSGAEVVKPGASV KISCKASGYTFT**GYFMN**W VKQSPGQSLEWIG**RIHPY DGDTFYNQKFQG**KATLTV DKSSNTAHMELLSLTSED FAVYYCTR**YDGSRAMD**YW GQGTTVTVSS	DIVLTQSPLSLAVSLGQP AIISC**KASQSVSFAGTSL MH**WYHQKPGQQPRLLIY**R ASNLEA**GVPDRFSGSGSK TDFTLTISPVEAEDAATY YC**QQSREYPYT**FGGGTKL EIK
26B3.F2		FOLR1	GPELVKPGASVKISCKAS DYSFT**GYFMN**WVMQSHGK SLEWIG**RIFPYNGDTFYN QKFKG**RATLTVDKSSSTA HMELRSLASEDSAVYFCA R**GTHYFDY**WGQGTTLTVS S	PASLSASVGETVTITC**RT SENIFSYLA**WYQQKQGIS PQLLVY**NAKTLAE**GVPSR FSGSGSGTQFSLKINSLQ PEDFGSYYC**QHHYAFPWT** FGGGSKLEIK
RG7686	GC33	GPC3	QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFT**DYEMH**W VRQAPGQGLEWMG**ALDPK TGDTAYSQKFKG**RVTLTA DKSTSTAYMELSSLTSED TAVYYCTR**FYSYTY**WGQG TLVTVSS	DVVMTQSPLSLPVTPGEP ASISC**RSSQSLVHSNGNT YLH**WYLQKPGQSPQLLIY **KVSNRFS**GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**SQNTHVPPT**FGQGTK LEIK
	4A6	GPC3	EVQLVQSGAEVKKPGESL KISCKGSGYSFT**SYWIA**W VRQMPGKGLEWMG**IIFPG DSDTRYSPSFQG**QVTISA DRSIRTAYLQWSSLKASD TALYYCAR**TREGYFDY**WG QGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSC**RAVQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GASS RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSSPT**FGGGTKVEIK
	11E7	GPC3	EVQLVQSGAEVKKPGESL KISCKGSGYSFT**NYWIA**W VRQMPGKGLEWMG**IIYPG DSDTRYSPSFQG**QVTISA DKSIRTAYLQWSSLKASD TAMYYCAR**TREGYFDY**WG QGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GASS RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSSPT**FGGGTKVEIK
	16D10	GPC3	EVQLVQSGADVTKPGESL KISCKVSGYRFT**NYWIG**W MRQMSGKGLEWMG**IIYPG DSDTRYSPSFQG**HVTISA DKSINTAYLRWSSLKASD TAIYYCAR**TREGFFDY**WG QGTPVTVSS	EILLTQSPGTLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GASS RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSSPT**FGQGTKVEIK
AMG-595		EGFR	QVQLVESGGGVVQSGRSL RLSCAAS**GFTFRNYGMH**W VRQAPGKGLEW**VAVIWYD GSDKYYADSVRG**RFTISR	DTVMTQTPLSSHVTLGQP ASISC**RSSQSLVHSDGNT YLS**WLQQRPGQPPRLLIY **RISRRFS**GVPDRFSGSGA

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDGY**DILTGNP RDFDY**WGQGTLVTVSS	GTDFTLEISRVEAEDVGV YYC**MQSTHVPRT**FGQGTK VEIK
Erubitux™	цетуксимаб	EGFR	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVS**GFSLTNYG**VHW VRQSPGKGLEWLGV**IWSG GNT**DYNTPFTSRLSINKD NSKSQVFFKMNSLQSNDT AIYYC**ARALTYYDYEFAY** WGQGTLVTVSA	DILLTQSPVILSVSPGER VSFSCRAS**QSIGTN**IHWY QQRTNGSPRLLIK**YAS**ES ISGIPSRFSGSGSGTDFT LSINSVESEDIADYYC**QQ NNNWPTT**FGAGTKLELK
GA201	имгатузумаб	EGFR	QVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGFTFT**DYKIH**W VRQAPGQGLEWMG**YFNPN SGYSTYAQKFQG**RVTITA DKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR**LSPGGYYVMD A**WGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RASQGINNYLN**WY QQKPGKAPKRLIY**NTNNL QT**GVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYC**LQ HNSFPT**FGQGTKLEIK
Humax	залутумумаб	EGFR	QVQLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGFTFS**TYGMH**W VRQAPGKGLEWVA**VIWDD GSYKYYGDSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR**DGITMVRGVM KDYFDY**WGQGTLVTVSS	AIQLTQSPSSLSASVGDR VTITC**RASQDISSALV**WY QQKPGKAPKLLIY**DASSL ES**GVPSRFSGSESGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQ FNSYPLT**FGGGTKVEIK
IMC-11F8	нецитумумаб	EGFR	QVQLQESGPGLVKPSQTL SLTCTVSGGSIS**SGDYYW S**WIRQPPGKGLEWIG**YIY YSGSTDYNPSLKS**RVTMS VDTSKNQFSLKVNSVTAA DTAVYYCAR**VSIFGVGTF DY**WGQGTLVTVSS	EIVMTQSPATLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSYLA**WY QQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYC**HQ YGSTPLT**FGGGTKAEIK
MM-151	P1X	EGFR	QVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGGTFS**SYAIS**W VRQAPGQGLEWMG**SIIPI FGTVNYAQKFQG**RVTITA DESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR**DPSVNLYWYF DL**WGRGTLVTVSS	DIQMTQSPSTLSASVGDR VTITC**RASQSISSWWA**WY QQKPGKAPKLLIY**DASSL ES**GVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPDDFATYYC**QQ YHAHPTT**FGGGTKVEIK
MM-151	P2X	EGFR	QVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGGTFG**SYAIS**W VRQAPGQGLEWMG**SIIPI FGAANPAQKSQG**RVTITA DESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAK**MGRGKVAFDI** WGQGTMVTVSS	DIVMTQSPDSLAVSLGER ATINC**KSSQSVLYSPNNK NYLA**WYQQKPGQPPKLLI Y**WASTRES**GVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVA VYYC**QQYYGSPIT**FGGGT KVEIK
MM-151	P3X	EGFR	QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT**SYGIN**W VRQAPGQGLEWMG**WISAY NGNTYYAQKLRG**RVTMTT DTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAR**DLGGYGSGSV PFDP**WGQGTLVTVSS	EIVMTQSPATLSVSPGER ATLSC**RASQSVSSNLA**WY QQKPGQAPRLLIY**GASTR AT**GIPARFSGSGSGTEFT LTISSLQSEDFAVYYC**QD YRTWPRRV**FGGGTKVEIK

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
TheraCIM	нимотузумаб	EGFR	QVQLQQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGYTFTNYYIYW VRQAPGQGLEWIGGINPT SGGSNFNEKFKTRVTITA DESSTTAYMELSSLRSED TAFYFCTRQGLWFDSDGR GFDFWGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRSSQNIVHSNGNT YLDWYQQTPGKAPKLLIY KVSNRFSGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLQPEDIAT YYCFQYSHVPWTFGQGTK LQIT
Vectibix™	панитумимаб	EGFR	QVQLQESGPGLVKPSETL SLTCTVSGGSVSSGDYYW TWIRQSPGKGLEWIGHIY YSGNTNYNPSLKSRLTIS IDTSKTQFSLKLSSVTAA DTAIYYCVRDRVTGAFDI WGQGTMVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYDASNL ETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQH FDHLPLAFGGGTKVEIK
07D06		EGFR	QIQLVQSGPELKKPGETV KISCKASGYTFTEYPIHW VKQAPGKGFKWMGMIYTD IGKPTYAEEFKGRFAFSL ETSASTAYLQINNLKNED TATYFCVRDRYDSLFDYW GQGTTLTVSS	DVVMTQTPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSLVHSNGNT YLHWYLQKPGQSPKLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHVPWTFGGGTK LEIK
12D03		EGFR	EMQLVESGGGFVKPGGSL KLSCAASGFAFSHYDMSW VRQTPKQRLEWVAYIASG GDITYYADTVKGRFTISR DNAQNTLYLQMSSLKSED TAMFYCSRSSYGNNGDAL DFWGQGTSVTVSS	DVVMTQTPLSLPVSLGDQ ASISCRSSQSLVHSNGNT YLHWYLQKPGQSPKLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHVLTFGSGTKL EIK
	C1	HER2	QVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSSYAMGW VRQAPGKGLEWVSSISGS SRYIYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKMDASGSYFNF WGQGTLVTVSS	QSPSFLSAFVGDRITITC RASPGIRNYLAWYQQKPG KAPKLLIYAASTLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQYNSYP LSFGGGTKVEIK
Erbicin		HER2	QVQLLQSAAEVKKPGESL KISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPG DSDTRYSPSFQGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASD TAVYYCARWRDSPLWGQG TLVTVSS	QAVVTQEPSFSVSPGGTV TLTCGLSSGSVSTSYYPS WYQQTPGQAPRTLIYSTN TRSSGVPDRFSGSILGNK AALTITGAQADDESDYYC VLYMGSGQYVFGGGTKLT VL
Herceptin	трастузумаб	HER2	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFNIKDTYIHW VRQAPGKGLEWVARIYPT NGYTRYADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMD YWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQDVNTAVAWY QQKPGKAPKLLIYSASFL YSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIK
MAGH22	маргетуксимаб	HER2	QVQLQQSGPELVKPGASL KLSCTASGFNIKDTYIHW VKQRPEQGLEWIGRIYPT	DIVMTQSHKFMSTSVGDR VSITCKASQDVNTAVAWY QQKPGHSPKLLIYSASFR

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			NGYTRYDPKFQDKATITA DTSSNTAYLQVSRLTSED TAVYYC**SRWGGDGFYAMD Y**WGQGASVTVSS	YTGVPDRFTGSRSGTDFT FTISSVQAEDLAVYYC**QQ HYTTPPT**FGGGTKVEIK
MM-302	F5	HER2	QVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFR**SYAMS**W VRQAPGKGLEWVS**AISGR GDNTYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC**AKMTSNAFAFDY** WGQGTLVTVSS	QSVLTQPPSVSGAPGQRV TISC**TGSSSNIGAGYGVH** WYQQLPGTAPKLLIY**GNT NRPS**GVPDRFSGFKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYC **QFYDSSLSGWV**FGGGTKL TVL
Perjeta	петрузумаб	HER2	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GFTFTDYT**MDW VRQAPGKGLEWVAD**VNPN SGGS**IYNQRFKGRFTLSV DRSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC**ARNLGPSFYFDY** WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCKASQ**DVSIG**VAWY QQKPGKAPKLLIY**SAS**YR YTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQ YYIYPYT**FGQGTKVEIK
MM-121/ SAR256212		HER3	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFS**HYVMA**W VRQAPGKGLEWVS**SISSS GGWTLYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCTR**GLKMATIFDY** WGQGTLVTVSS	QSALTQPASVSGSPGQSI TISC**TGTSSDVGSYNVVS** WYQQHPGKAPKLIIY**EVS QRPS**GVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQTEDEADYYC **CSYAGSSIFVI**FGGGTKV TVL
MEHD7945A	дулиготумаб	EGFR/HER3	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTLS**GDWIH**W VRQAPGKGLEWVG**EISAA GGYTDYADSVKG**RFTISA DTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCAR**ESRVSFEAAM DY**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**RASQNIATDVA**WY QQKPGKAPKLLIY**SASFL YS**GVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQ SEPEPYT**FGQGTKVEIK
MM-111		HER2/3	QVQLQESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFS**SYWMS**W VRQAPGKGLEWVA**NINRD GSASYYVDSVKG**RFTISR DDAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCAR**DRGVGYFDL**W GRGTLVTVSS	QSALTQPASVSGSPGQSI TISC**TGTSSDVGGYNFVS** WYQQHPGKAPKLMIY**DVS DRPS**GVSDRFSGSKSGNT ASLIISGLQADDEADYYC **SSYGSSSTHVI**FGGGTKV TVL
MM-111		HER2/3	QVQLVQSGAEVKKPGESL KISCKGSGYSFT**SYWIA**W VRQMPGKGLEYMG**LIYPG DSDTKYSPSFQG**QVTISV DKSVSTAYLQWSSLKPSD SAVYFCAR**HDVGYCTDRT CAKWPEWLGV**WGQGTLVT VSS	QSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISC**SGSSSNIGNNYV S**WYQQLPGTAPKLLIY**DH TNRPA**GVPDRFSGSKSGT SASLAISGFRSEDEADYY C**ASWDYTLSGWV**FGGGTK LTVL
	Hu3S193	Льюис-Y	EVQLVESGGGVVQPGRS LRLSCSTSGFTFS**DYYM Y**WVRQAPGKGLEWVA**YM SNVGAITDYPDTVKG**RF TISRDNSKNTLFLQMDS	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITC**RSSQRIVHSNG NTYLE**WYQQTPGKAPKL LIY**KVSNRFS**GVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLQP

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			LRPEDTGVYFCAR**GTRD GSWFAY**WGQGTPVTVSS	EDIATYYC**FQGSHVPFT** FGQGTKLQIT
BAY 94-9343	анетумаб равтанзин	мезотелин	QVELVQSGAEVKKPGESL KISCKGS**GYSFTSYW**IGW VRQAPGKGLEWMGI**IDPG DSRT**RYSPSFQGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASD TAMYYC**ARGQLYGGTYMD G**WGQGTLVTVSS	DIALTQPASVSGSPGQSI TISCTGT**SSDIGGYNS**VS WYQQHPGKAPKLMIY**GVN** NRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEADYYC **SSYDIESATPV**FGGGTKL TVL
	SS1	мезотелин	QVQLQQSGPELEKPGASV KISCKASGYSFTGYTMNW VKQSHGKSLEWIGLITPY NGASSYNQKFRGKATLTV DKSSSTAYMDLLSLTSED SAVYFCARGGYDGRGFDY WGQGTTVTVSS	DIELTQSPAIMSASPGEK VTMTCSASSSVSYMHWYQ QKSGTSPKRWIYDTSKLA SGVPGRFSGSGSGNSYSL TISSVEAEDDATYYCQQW SGYPLTFGAGTKLEIK
		мезотелин	QVYLVESGGGVVQPGRSL RLSCAASGITFS**IYGMH**W VRQAPGKGLEWVA**VIWYD GSHEYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLLMNSLRAED TAVYYCAR**DGDYYDSGSP LDY**WGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSYLA**WY QQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYC**QQ RSNWPLT**FGGGTKVEIK
		мезотелин	QVHLVESGGGVVQPGRSL RLSCVASGITF**RIYGM**HW VRQAPGKGLEWVA**VLWYD GSHEYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAIYYCAR**DGDYYDSGSP LDY**WGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSYLA**WY QQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYC**QQ RSNWPLT**FGGGTKVEIK
		мезотелин	EVHLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFS**RYWMS**W VRQAQGKGLEWVA**SIKQA GSEKTYVDSVKG**RFTISR DNAKNSLSLQMNSLRAED TAVYYCAR**EGAYYYDSAS YYPYYYYYSMDV**WGQGTT VTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GASS RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSSQYT**FGQGTKLEIK
MORAb-009	аматуксимаб	мезотелин	QVQLQQSGPELEKPGASV KISCKASGYSFT**GYTMN**W VKQSHGKSLEWIG**LITPY NGASSYNQKFRG**KATLTV DKSSSTAYMDLLSLTSED SAVYFCAR**GGYDGRGFDY** WGSGTPVTVSS	DIELTQSPAIMSASPGEK VTMTC**SASSSVSYMH**WYQ QKSGTSPKRWIY**DTSKLA S**GVPGRFSGSGSGNSYSL TISSVEAEDDATYYC**QQW SKHPLT**FGSGTKVEIK
hPAM4		MUC-1	EVQLQESGPELVKPGASV KMSCKASGYTFP**SYVLH**W VKQKPGQGLEWIG**YINPY NDGTQYNEKFKG**KATLTS DKSSSTAYMELSRLTSED SAVYYCAR**GFGGSYGFAY** WGQGTLITVSA	DIVMTQSPAIMSASPGEK VTMTC**SASSSVSSSYLY**W YQQKPGSSPKLWIY**STSN LAS**GVPARFSGSGSGTSY SLTISSMEAEDAASYFC**H QWNRYPYT**FGGGTKLEIK

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
hPAM4-Cide	кливатузумаб	MUC1	QVQLQQSGAEVKKFGASV KVSCEASGYTFP**SYVLH**W VKQAPGQGLEWIG**YINPY NDGTQTNKKFKG**KATLTR DTSINTAYMELSRLRSDD TAVYYCAR**GFGGSYGFAY** NGQGTLVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDR VTMTC**SASSSVSSSYLY**W YQQKPGKAPKLWIY**STSN LAS**GVPARFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDSASYFC**H QWNRYPYT**FGGGTRLEIK
SAR566658	huDS6v1.01	MUC1	QAQLQVSGAEVVKPGASV KMSCKASGYTFT**SYNMH**W VKQTPGQGLEWIG**YIYPG NGATNYNQKFQG**KATLTA DTSSSTAYMQISSLTSED SAVYFCAR**GDSVPFAY**WG QGTLVTVSA	EIVLTQSPATMSASPGER VTITC**SAHSSVSFMH**WFQ QKPGTSPKLWIY**STSSLA S**GVPARFGGSGSGTSYSL TISSMEAEDAATYYC**QQR SSFPLT**FGAGTKLELK
Theragyn	пемтумомаб muHMFG1	MUC1	QVQLQQSGAELMKPGASV KISCKATGYTFS**AYWIE**W VKQRPGHGLEWIG**EILPG SNNSRYNEKFKG**KATFTA DTSSNTAYMQLSSLTSED SAVYYCSR**SYDFAWFAY**W GQGTPVTVSA	DIVMSQSPSSLAVSVGEK VTMSC**KSSQSLLYSSNQK IYLA**WYQQKPGQSPKLLI YW**ASTRES**GVPDRFTGGG SGTDFTLTISSVKAEDLA VYYC**QQYYRYPRT**FGGGT KLEIK
Therex	сонтузумаб huHMFG1 AS1402 R1150	MUC1	QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFS**AYWIE**W VRQAPGKGLEWVG**EILPG SNNSRYNEKFKG**RVTVTR DTSTNTAYMELSSLRSED TAVYYCAR**SYDFAWFAY**W GQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITC**KSSQSLLYSSNQK IYLA**WYQQKPGKAPKLLI YW**ASTRES**GVPSRFSGSG SGTDFTFTISSLQPEDIA TYYC**QQYYRYPRT**FGQGT KVEIK
MDX-1105 or BMS-936559		PD-L1	QVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKTSGDTFS**TYAIS**W VRQAPGQGLEWMG**GIIPI FGKAHYAQKFQG**RVTITA DESTSTAYMELSSLRSED TAVYFCAR**KFHFVSGSPF GMDV**WGQGTTVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSYLA**WY QQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYC**QQ RSNWPT**FGQGTKVEIK
MEDI-4736	дурвалумаб	PD-L1	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GFTFSRYW**MSW VRQAPGKGLEWVAN**IKQD GSEK**YYVDSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYC**AREGGWFGELAF DY**WGQGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRAS**QRVSSSY**LAW YQQKPGQAPRLLIY**DAS**S RATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSLPWT**FGQGTKVEIK
MPDL3280A	атезолизумаб	PD-L1	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GFTFSDSW**IHW VRQAPGKGLEWVAW**ISPY GGST**YYADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYC**ARRHWPGGFDY**W GQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRAS**QDVSTA**VAWY QQKPGKAPKLLIY**SAS**FL YSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC**QQ YLYHPAT**FGQGTKVEIK
MSB0010718C	авелумаб	PD-L1	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GFTFSSYI**MMW VRQAPGKGLEWVSS**IYPS**	QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGT**SSDVGGYNY**VS WYQQHPGKAPKLMIY**DVS**

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			GGITFYADTVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC**ARIKLGTVTTVD Y**WGQGTLVTVSS	NRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEADYYC **SSYTSSSTRV**FGTGTKVT VL
MLN591		PSMA	EVQLVQSGPEVKKPGATV KISCKTS**GYTFTEYTIH**W VKQAPGKGLEWIG**NINPN NGGTTYNQKFED**KATLTV DKSTDTAYMELSSLRSED TAVYYCAA**GWNFDY**WGQG TLLTVSS	DIQMTQSPSSLSTSVGDR VTLTC**KASQDVGTAVD**WY QQKPGPSPKLLIY**WASTR HT**GIPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFADYYC**QQ YNSYPLT**FGPGTKVDIK
MT112	пасотуксизумаб	PSMA	QVQLVESGGGLVKPGESL RLSCAAS**GFTFSDYY**MYW VRQAPGKGLEWVAI**ISDG GYYT**YYSDIIKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLKAED TAVYYC**ARGFPLLRHGAM DY**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCKAS**QNVDTN**VAWY QQKPGQAPKSLIY**SAS**YR YSDVPSRFSGSASGTDFT LTISSVQSEDFATYYC**QQ YDSYPYT**FGGGTKLEIK
		ROR1	QEQLVESGGRLVTPGGSL TLSCKASGFDFS**AYYMS**W VRQAPGKGLEWIA**TIYPS SGKTYYATWVNG**RFTISS DNAQNTVDLQMNSLTAAD RATYFCAR**DSYADDGALF NI**WGPGTLVTISS	ELVLTQSPSVSAALGSPA KITC**TLSSAHKTDTID**WY QQLQGEAPRYLMQVQSD**G SYTKRP**GVPDRFSGSSSG ADRYLIIPSVQADDEADY YC**GADYIGGYV**FGGGTQL TVTG
		ROR1	EVKLVESGGGLVKPGGSL KLSCAASGFTFS**SYAMS**W VRQIPEKRLEWVA**SISRG GTTYYPDSVKG**RFTISRD NVRNILYLQMSSLRSEDT AMYYCGR**YDYDGYYAMDY** WGQGTSVTVSS	DIKMTQSPSSMYASLGER VTITC**KASPDINSYLS**WF QQKPGKSPKTLIY**RANRL VD**GVPSRFSGGGSGQDYS LTINSLEYEDMGIYYC**LQ YDEFPYT**FGGGTKLEMK
		ROR1	QSLEESGGRLVTPGTPLT LTCTVSGIDLN**SHWMS**WV RQAPGKGLEWIG**IIAASG STYYANWAKG**RFTISKTS TTVDLRIASPTTEDTATY FCAR**DYGDYRLVTFNI**WG PGTLVTVSS	ELVMTQTPSSVSAAVGGT VTINC**QASQSIGSYLA**WY QQKPGQPPKLLIY**YASNL AS**GVPSRFSGSGSGTEYT LTISGVQREDAATYYC**LG SLSNSDNV**FGGGTELEIL
		ROR1	QSVKESEGDLVTPAGNLT LTCTASGSDIN**DYPIS**WV RQAPGKGLEWIG**FINSGG STWYASWVKG**RFTISRTS TTVDLKMTSLTTDDTATY FCAR**GYSTYYCDFNI**WGP GTLVTISS	ELVMTQTPSSTSGAVGGT VTINC**QASQSIDSNLA**WF QQKPGQPPTLLIY**RASNL AS**GVPSRFSGSRSGTEYT LTISGVQREDAATYYC**LG GVGNVSYRTS**FGGGTEVV VK
CC49 (гуманизированное)		TAG-72	QVQLVQSGAEVVKPGASV KISCKASGYTFT**DHAIH**W VKQNPGQRLEWIG**YFSPG NDDFKYNERFKG**KATLTA DTSASTAYVELSSLRSED TAVYFCTR**SLNMAY**WGQG	DIVMSQSPDSLAVSLGER VTLNCKSS**QSLLYSGNQK NYLA**WYQQKPGQSPKLLI Y**WASARES**GVPDRFSGSG SGTDFTLTISSVQAEDVA VYYC**QQYYSYPLT**FGAGT

Торговое наименование	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			TLVTVSS	KLELK
	Мышиное A1	TPBG/5T4	QIQLVQSGPELKKPGETV KISCKAS**GYTFTNFGMN**W VKQGPGEGLKWMG**WINTN TGEPRYAEEFKG**RXAFSL ETTASTAYLQINNLKNED TATYFCAR**DWDGAYFFDY** WGQGTTLTVSS	SIVMTQTPKFLLVSAGDR VTITC**KASQSVSNDVA**WY QQKPGQSPKLLIN**FATNR YT**GVPNRFTGSGYGTDFT FTISTVQAEDLALYFC**QQ DYSSPWT**FGGGTKLEIK
	Мышиное A2	TPBG/5T4	QVQLQQSRPELVKPGASV KMSCKAS**GYTFTDYVIS**W VKQRTGQGLEWIG**EIYPG SNSIYYNEKFKG**RATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCAM**GGNYGFDY**WG QGTTLTVSS	SVIMSRGQIVLTQSPAIM SASLGERVTLTC**TASSSV NSNYLH**WYQQKPGSSPKL WIY**STSNLAS**GVPARFSG SGSGTSYSLTISSMEAED AATYYC**HQYHRSPLT**FGA GTKLELK
	Мышиное A3	TPBG/5T4	EVQLVESGGGLVQPKGSL KLSCAAS**GFTFNTYAMN**W VRQAPGKGLEWVA**RIRSK SNNYATYYADSVKD**RFTI SRDDSQSMLYLQMNNLKT EDTAMYXCVR**QWDYDVRA MNY**WGQGTSVTVSS	DIVMTQSHIFMSTSVGDR VSITC**KASQDVDTAVA**WY QQKPGQSPKLLIY**WASTR LT**GVPDRFTGSGSGTDFT LTISNVQSEDLADYFC**QQ YSSYPYT**FGGGTKLEIK
IMMU-132	hRS-7	TROP-2	QVQLQQSGSELKKPGASV KVSCKASGYTFT**NYGMN**W VKQAPGQGLKWMG**WINTY TGEPTYTDDFKG**RFAFSL DTSVSTAYLQISSLKADD TAVYFCAR**GGFGSSYWYF DV**WGQGSLVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDR VSITC**KASQDVSIAVA**WY QQKPGKAPKLLIY**SASYR YT**GVPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAVYYC**QQ HYITPLT**FGAGTKVEIK
IMC-18F1	икрукумаб	VEGFR1	QAQVVESGGGVVQSGRSL RLSCAAS**GFAFSSYGMHW** VRQAPGKGLEWVA**VIWYD GSNKYYADSVRG**RFTISR DNSENTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR**DHYGSGVHHY FYYGLDV**WGQGTTVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**GASS RAT**GIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC**Q QYGSSPLT**FGGGTKVEIK
Cyramza	рамуцирумаб	VEGFR2	EVQLVQSGGGLVKPGGSL RLSCAAS**GFTFSSYSMN**W VRQAPGKGLEWVS**SISSS SSYIYYADSVKG**RFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCAR**VTDAFDI**WGQ GTMVTVSSA	DIQMTQSPSSVSASIGDR VTITC**RASQGIDN**WLGWY QQKPGKAPKLLIY**DASNL DT**GVPSRFSGSGSGTYFT LTISSLQAEDFAVYFC**QQ AKAFPPT**FGGGTKVDIK
g165DFM-PEG	Алацизумаб пегол	VEGFR2	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAAS**GFTFSSYG**MSW VRQAPGKGLEWVAT**ITSG GSYT**YYVDSVKGRFTISR DNAKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC**VRIGEDALDY**WG QGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRAS**QDIAGS**LNWL QQKPGKAIKRLIY**ATS**SL DSGVPKRFSGSRSGSDYT LTISSLQPEDFATYYC**LQ YGSFPPT**FGQGTKVEIK
Imclone6.64		VEGFR2	KVQLQQSGTELVKPGASV	DIVLTQSPASLAVSLGQR

Торговое наименова-ние	Название антитела	Маркер клетки-мишени	Последовательность VH	Последовательность VL
			KVSCKASGYIFTEYIIHW VKQRSGQGLEWIGWLYPE SNIIKYNEKFKDKATLTA DKSSSTVYMELSRLTSED SAVYFCTRHDGTNFDYWG QGTTLTVSSA	ATISCRASESVDSYGNSF MHWYQQKPGQPPKLLIYR ASNLESGIPARFSGSGSR TDFTLTINPVEADDVATY YCQQSNEDPLTFGAGTKL ELK

* подчеркнутые и выделенные жирным шрифтом последовательности, если они присутствуют, представляют собой CDR в составе VL и VH

[00217]

Таблица 6. Внутримолекулярные длинные линкеры

Линкер #	Название	Аминокислотная последовательность
L1	(G4S)3	GGGGSGGGGSGGGGS
L2	MT110_18	GEGTSTGSGGSGGSGGAD
L3	MT103_18	VEGGSGGSGGSGGSGGVD
L4	UCHT1_29	RTSGPGDGGKGGPGKGPGGEGTKGTGPGG
L5	Y30	GSGEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSG
L6	Y32	TGSGEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSGT
L7	G1_30_3	GATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEG
L8	G9_30_1	GSAAPTAGTTPSASPAPPTGGSSAAGSPST
L9	Y30_модифицированный	GEGGESGGSEGEGSGEGEGGSGGEGESEGG
L10	G1_30_1	STETSPSTPTESPEAGSGSGSPESPSGTEA
L11	G1_30_2	PTGTTGEPSGEGSEPEGSAPTSSTSEATPS
L12	G1_30_4	SESESEGEAPTGPGASTTPEPSESPTPETS
L13	UCHT1_ модифицированный	PEGGESGEGTGPGTGGEPEGEGGPGGEGGT

Таблица 7. Межмолекулярные короткие линкеры

Название	Аминокислотная последовательность
S-1	SGGGGS
S-2	GGGGS
S-3	GGS
S-4	GSP

V. Объемные фрагменты и удлиненные рекомбинантные полипептиды (XTEN)

[00218] В другом аспекте изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, содержащие по меньшей мере первую объемную группировку, которая включена в

рассматриваемые композиции как для увеличения массы и размера конструкции, так и для значительного снижения способности связывающих группировок связывать свои лиганды, когда молекула находится в интактном, нерасщепленном состоянии, которые более подробно описаны ниже. В некоторых воплощениях изобретения предложен рекомбинантный полипептид, содержащий одну объемную группировку, слитую с N- или C-концом RS, расположенного между связывающей группировкой и объемной группировкой. Неограничивающие примеры объемных группировок включают удлиненный рекомбинантный полипептид (XTEN, который описан ниже); альбумин-связывающий домен; альбумин; связывающий домен IgG; полипептиды по меньшей мере из 350 аминокислотных остатков, состоящих из пролина, серина и аланина; жирную кислоту; эластиноподобный белок (ELP) (отдельные субъединицы или строительные блоки ELP происходят из мотива из пяти аминокислот, обнаруженного в человеческом белке эластине, который многократно повторяется с образованием биополимера ELP, как описано в WO 2016081884), домен Fc, полиэтиленгликоль (PEG), PLGA (сополимер молочной и гликолевой кислот) и гидроксиэтилкрахмал.

[00219] В предпочтительном воплощении настоящее изобретения предложен рекомбинантный полипептид, содержащий по меньшей мере первый XTEN, слитый с N- или C-концом RS, который, в свою очередь, слит с прилегающей к ней связывающей группировкой. В другом воплощении рекомбинантный полипептид содержит две разные последовательности XTEN, где каждый из двух XTEN связан с двумя RS композиции, которые, в свою очередь, связаны со связывающими группировками. В одном воплощении композиции рекомбинантных полипептидов содержат первую последовательность XTEN, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% при оптимальном выравнивании, последовательности XTEN сопоставимой длины, выбранной из группы последовательностей, указанных в Таблице 8 или Таблице 10. В другом воплощении рекомбинантный полипептид содержит первую и вторую последовательность XTEN (XTEN1 и XTEN2), причем каждая последовательность идентична по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% при оптимальном выравнивании, последовательности, выбранной из последовательностей, представленных в Таблице 8. В другом воплощении рекомбинантный полипептид содержит первую и вторую последовательность XTEN (XTEN1 и XTEN2), причем каждая последовательность идентична по меньшей мере на

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% при оптимальном выравнивании, последовательности, выбранной из последовательностей, представленных в Таблице 10.

[00220] Не связываясь с какой-либо теорией, авторы изобретения включали объемную группировку в дизайн композиций по изобретению для придания определенных свойств: 1) обеспечения рекомбинантной полипептидной композиции объемной группировкой XTEN, которая экранирует связывающие группировки и уменьшает аффинность связывания с маркерами клеток-мишеней и антигенами эффекторных клеток, когда композиция находится в своей интактной форме пролекарства; ii) обеспечения рекомбинантной полипептидной композиции объемной группировкой XTEN, которая обеспечивает увеличенный период полувыведения при введении субъекту, iii) способствования растворимости и стабильности интактной композиции, тем самым улучшая фармацевтические свойства композиций по изобретению; и iv) обеспечения рекомбинантной полипептидной композиции объемной группировкой XTEN, которая уменьшает утечку из сосудов в нормальных тканях и органах, но в то же время допускает определенную степень утечки в пораженных тканях (например, опухоли) с большими размерами пор в сосудистой сети, но может высвобождаться из композиции под действием определенных протеаз млекопитающих, что позволяет связывающим группировкам композиции легче проникать в пораженные ткани, например опухоль, и связывать и соединять вместе эффекторную клетку и целевые клеточные маркеры на опухолевой клетке. Для удовлетворения этих потребностей в изобретении предложены композиции, содержащие один или несколько XTEN, где XTEN обеспечивает увеличение массы и гидродинамического радиуса полученной композиции. Полипептиды XTEN по воплощениям обеспечивают определенные преимущества дизайну композиций по изобретению, обеспечивая не только увеличение массы и гидродинамического радиуса, но и благодаря своей гибкости и неструктурированности, обеспечивая эффект экранирования связующих группировок композиции, тем самым уменьшая вероятность связывания с антигенами нормальных тканей или сосудистой сети нормальных тканей, которые не экспрессируют или экспрессируют пониженные уровни маркеров клеток-мишеней и/или антигенов эффекторных клеток, и усиливая растворимость и правильную укладку связывающих группировок одноцепочечных фрагментов антител при их экспрессии и выделении.

[00221] XTEN представляют собой полипептиды с не встречающимися в природе, по существу неповторяющимися последовательностями, имеющие низкую степень или не имеющие вторичной или третичной структуры в физиологических условиях, а также дополнительные свойства, описанные в следующих параграфах. XTEN обычно имеют от по меньшей мере примерно 100 до по меньшей мере примерно 1000 или более аминокислот, и более предпочтительно по меньшей мере от примерно 200 до по меньшей мере примерно 900 аминокислот, из которых большинство или все представляют собой небольшие гидрофильные аминокислоты, выбранные из глицина, серина, треонина, глутамата и пролина. В настоящем описании XTEN специально исключает цельные антитела или фрагменты антител (например, одноцепочечные антитела и фрагменты Fc). Полипептиды XTEN могут применяться в качестве партнеров по слиянию в том смысле, что они выполняют различные роли, придавая определенные желательные свойства при связывании с композицией, содержащей, например, биспецифические связывающие группировки композиций AAC по настоящему изобретению, описанных в данном документе. Полученные композиции обладают улучшенными свойствами, такими как улучшенные фармакокинетические, физико-химические, фармакологические и улучшенные токсикологические и фармацевтические свойства по сравнению с соответствующими связывающими группировками, не связанными с XTEN, что делает их полезными при лечении определенных состояний, для которых связывающие группировки известны в данной области техники.

[00222] Неструктурированность и физико-химические свойства XTEN частично обусловлены общим аминокислотным составом, который диспропорционально ограничен 4-6 типами гидрофильных аминокислот, последовательностью аминокислот, образующих практически неповторяющуюся конструкцию, и полученной длиной полипептида XTEN. Предпочтительным признаком, общим для XTEN, но не характерным для нативных полипептидов, является то, что свойства XTEN, раскрытые в данном документе, не связаны исключительно с первичной аминокислотной последовательностью, о чем свидетельствует разнообразие приведенных в качестве примера последовательностей в Таблицах 8 и 10, которые при различной длине имеют одинаковые свойства и придают улучшенные свойства композициям, с которыми они связаны, многие из которых описаны в Примерах. Действительно, композиции по изобретению не ограничиваются композициями XTEN, перечисленными в Таблицах 8 или 10, но, скорее, воплощения

включают последовательности, обладающие идентичностью по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% при оптимальном выравнивании с последовательностями из Таблицы 8 или Таблицы 10, при условии, что они проявляют свойства XTEN, описанные в данном документе. Установили, что такие XTEN обладают свойствами, более похожими на небелковые, гидрофильные полимеры (такие как полиэтиленгликоль или «ПЭГ»), чем на белки. XTEN по настоящему изобретению демонстрируют одно или несколько из следующих предпочтительных свойств: определенная и однородная длина (для заданной последовательности), конформационная гибкость, уменьшенное образование или отсутствие вторичной структуры, образование случайной спирали большой частью аминокислот, высокая растворимость в воде, высокая устойчивость к протеазам, низкая иммуногенность, низкая степень связывания с рецепторами млекопитающих, определенный заряд и увеличенный гидродинамический радиус (или радиус Стокса); свойства, которые схожи с некоторыми гидрофильными полимерами (например, полиэтиленгликолем), что делает их особенно подходящими в качестве партнеров по слиянию.

[00223] Компонент(ы) XTEN рассматриваемых рекомбинантных полипептидов и AAC сконструированы так, что в физиологических условиях они ведут себя как денатурированные пептидные последовательности, несмотря на увеличенную длину полимера. «Денатурированный» описывает состояние пептида в растворе, которое характеризуется большой конформационной свободой пептидного остова. Большинство пептидов и белков принимают денатурированную конформацию в присутствии высоких концентраций денатурирующих веществ или при повышенной температуре. Пептиды в денатурированной конформации имеют, например, характерные спектры кругового дихроизма (CD) и характеризуются отсутствием взаимодействий дальнего порядка по результатам ЯМР. «Денатурированная конформация» и «неструктурированная конформация» используются в данном документе как синонимы. В некоторых воплощениях изобретения предложены композиции, которые содержат последовательности XTEN, которые в физиологических условиях напоминают денатурированные последовательности, которые в физиологических условиях по существу лишены вторичной структуры. «По существу лишены» в данном контексте, означает, что по меньшей мере около 80%, или около 90%, или около 95%, или около 97%, или по меньшей мере около 99% аминокислотных остатков XTEN последовательности

XTEN не вносят вклад во вторичную структуру, измеряемую или определяемую способами, описанными в данном документе, включая алгоритмы или спектрофотометрические анализы.

[00224] В области техники существует множество хорошо известных способов и анализов для определения и подтверждения физико-химических свойств рассматриваемого XTEN и рассматриваемых полипептидных композиций, в которые они включены. Такие свойства включают вторичную или третичную структуру, растворимость, агрегацию белка, стабильность, абсолютную и кажущуюся молекулярную массу, чистоту и однородность, свойства плавления, содержание примесей и воды. Способы измерения таких свойств включают аналитическое центрифугирование, ЭПР, ВЭЖХ-ионообменную хроматографию, ВЭЖХ-эксклюзионную хроматографию (SEC), ВЭЖХ с обращенной фазой, светорассеяние, капиллярный электрофорез, круговой дихроизм, дифференциальную сканирующую калориметрию, флуоресценцию, ВЭЖХ-ионообменную хроматографию, ВЭЖХ-эксклюзионную хроматографию, ИК, ЯМР, Рамановскую спектроскопию, рефрактометрию и спектроскопию в УФ/видимом диапазоне. В частности, вторичная структура может быть измерена спектрофотометрически, например, с помощью спектроскопии кругового дихроизма в «дальней УФ» области спектра (190-250 нм). Каждый элемент вторичной структуры, такой как альфа-спираль и бета-слой, дает характерную форму и интенсивность спектров CD, как и отсутствие этих структурных элементов. Вторичная структура также может быть предсказана для полипептидной последовательности с помощью определенных компьютерных программ или алгоритмов, таких как хорошо известный алгоритм Чоу-Фасмана (Chou, P. Y., *et al.* (1974) *Biochemistry*, 13: 222-45) и алгоритм Гарнье, Осгуторпа и Робсона («алгоритм GOR IV») (Garnier J, Gibrat JF, Robson B. (1996), метод GOR для предсказания вторичной структуры белка по аминокислотной последовательности. Methods Enzymol 266: 540-553), как описано в опубликованной заявке на патент US 20030228309A1. Алгоритмы могут предсказать существование или отсутствие какой-либо вторичной структуры для заданной последовательности, что выражается как общее количество и/или процент остатков последовательности, которые образуют, например, альфа-спирали или бета-слои, или процентное соотношение остатков последовательности, которые, согласно расчетам, приводят к образованию случайной спирали (которая не имеет вторичной структуры). Полипептидные последовательности можно анализировать с

использованием алгоритма Чоу-Фасмана с использованием сайтов в интернете, например, по адресу fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_www.cgi?rm=misc1 и алгоритма GOR IV по адресу npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html (доступ осуществлен 8 декабря 2017). Случайная спираль может быть определена различными методами, включая определение собственной вязкости, которая изменяется с длиной цепи зависимым от конформации образом (Tanford, C., Kawahara, K. & Lapanje, S. (1966) J. Biol. Chem. 241, 1921–1923), а также методом эксклюзионной хроматографии (Squire, P. G., Calculation of hydrodynamic parameters of random coil polymers from size exclusion chromatography and comparison with parameters by conventional methods. Journal of Chromatography, 1981, 5,433-442). Дополнительные способы раскрыты Arnau, *et al.*, Prot Expr and Purif (2006) 48, 1-13.

[00225] В одном воплощении последовательности XTEN рассматриваемых композиций имеют процент альфа-спирали, варьирующий от 0% до менее чем приблизительно 5% и процент бета-слоя, варьирующий от 0% до менее чем приблизительно 5%, при предсказании согласно алгоритму Чоу-Фасмана и процент случайной спирали по меньшей мере около 90%, или по меньшей мере около 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% при предсказании согласно алгоритму GOR IV. В другом воплощении последовательности XTEN изложенных композиций имеют процент альфа-спирали менее чем приблизительно 2% и процент бета-слоя менее чем приблизительно 2%, при предсказании согласно алгоритму Чоу-Фасмана, и процент случайной спирали по меньшей мере приблизительно 90% при предсказании согласно алгоритму GOR IV. В другом воплощении последовательности XTEN композиций по существу не имеют вторичной структуры, при определении методом кругового дихроизма.

[00226] В одном воплощении последовательность XTEN, используемая в рассматриваемых композициях по изобретению, по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из группы, состоящей из AE 144_1A, AE 144_2A, AEE144_2B, AE 144_3A, AE144_3B, AE 144_4A, AE 144_4B, AE 144_5A, AE 144_6B, AE288_1, AE288_2, AE288_3, AE284, AE292, AE576, AE864, AE864_2, AE865, AE866, AE867, AE867_2 и AE868.

[00227] В некоторых воплощениях, где менее чем 100% аминокислот XTEN в рассматриваемых композициях выбраны из глицина (G), аланина (A), серина (S), треонина (T), глутамата (E) и пролина (P)) или где менее 100% последовательности состоит из

последовательностей XTEN из Таблицы 8 или Таблицы 10, оставшиеся аминокислотные остатки XTEN выбраны из любых других 14 L-аминокислот естественного происхождения, но предпочтительно выбраны из гидрофильных аминокислот, так что последовательность XTEN содержит по меньшей мере приблизительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или по меньшей мере приблизительно 99% гидрофильных аминокислот. Содержание гидрофобных аминокислот в XTEN, используемом в композициях по настоящему изобретению, может составлять менее 5%, или менее 2%, или менее 1%. Гидрофобные остатки, которые менее предпочтительны при конструировании XTEN, включают триптофан, фенилаланин, тирозин, лейцин, изолейцин, валин и метионин. Кроме того, последовательности XTEN могут содержать менее чем 5% или менее чем 4% или менее чем 3% или менее чем 2% или менее чем 1% или ни одной из следующих аминокислот: метионин (например, чтобы избежать окисления) или аспарагин и глутамин (чтобы избежать дезаминирования).

[00228] В одном воплощении аминокислотные последовательности некоторых XTEN, используемых в воплощениях AAC по настоящему изобретению, приведены в Таблице 8.

Таблица 8. Полипептиды XTEN

Название XTEN	**Аминокислотная последовательность**
AE144	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAP
AE144_1A	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPG
AE144_2A	TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPG
AE144_2B	TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPG
AE144_3A	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPG
AE144_3B	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPG
AE144_4A	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPG
AE144_4B	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPG
AE144_5A	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	AGSPTSTEEG
AE144_6B	TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPG
AE288_1	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE288_2	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE576	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE624	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE865	GGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE866	PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AE1152	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAP
AE144A	STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGS
AE144B	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPG
AE180A	TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE216A	PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESAT
AE252A	ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE
AE288A	TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	APGSEPATSGSETPGTSESA
AE324A	PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE360A	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE396A	PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS
AE432A	EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE468A	EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE504A	EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS
AE540A	TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEP
AE576A	TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA
AE612A	GSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESAT
AE648A	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE684A	EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSEPATS
AE720A	TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE
AE756A	TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	APGSEPATSGSETPGTSES
AE792A	EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS
AE828A	PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE869	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGR
AE144_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTESASR
AE288_R1	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPSASR
AE432_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTESASR
AE576_R1	SAGSPTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
AE864_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTESASR
AE712	PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEAHHH
AE864_R2	GSPGAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTESASR

[00229] Изобретение охватывает композиции, содержащие XTEN промежуточной длины, как в Таблице 8, а также XTEN большей длины, в которых к N- или C-концу XTEN из Таблицы 8 добавлены мотивы из 12 аминокислот. В одном воплощении рассматриваемая композиция содержит XTEN из Таблицы 8 с добавлением одной или более чем одной копии одного или нескольких мотивов, выбранных из группы мотивов, указанных в Таблице 9.

Таблица 9. Последовательности мотивов XTEN из 12 аминокислот и семейства мотивов

Семейство мотива*	Последовательность мотива
AD	GESPGGSSGSES
AD	GSEGSSGPGESS
AD	GSSESGSSEGGP
AD	GSGGEPSESGSS
AE	GSPAGSPTSTEE
AE	GSEPATSGSETP
AE	GTSESATPESGP
AE	GTSTEPSEGSAP
AF	GSTSESPSGTAP
AF	GTSTPESGSASP
AF	GTSPSGESSTAP
AF	GSTSSTAESPGP
AG	GTPGSGTASSSP
AG	GSSTPSGATGSP
AG	GSSPSASTGTGP
AG	GASPGTSSTGSP

* Обозначает отдельные последовательности мотивов, которые при слиянии вместе при различных перестановках образуют «семейство последовательностей».

[00230] В другом воплощении аминокислотные последовательности определенных XTEN, используемых в воплощениях изобретения, приведены в Таблице 10. В одном воплощении AAC содержит первый XTEN (XTEN1), который содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% при оптимальном выравнивании, последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 10. В других воплощениях AAC содержит первый XTEN (XTEN1) и второй XTEN (XTEN2), который содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% при оптимальном выравнивании, последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 10. В одном воплощении XTEN1 и XTEN2 являются идентичными. В одном воплощении XTEN1 и XTEN2 являются различными. В другом воплощении AAC содержит XTEN1 и XTEN2, которые содержат аминокислотные последовательности, идентичные по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% при оптимальном выравнивании, последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблицах 8 и 10. В другом воплощении AAC содержит XTEN1 и XTEN2,

которые содержат аминокислотные последовательности, идентичные по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или на 100% при оптимальном выравнивании, последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблицах 8 и 10 и дополнительно содержат His метку HHHHHH или HHHHHHHH на N-конце или C-конце композиции.

Таблица 10. Полипептиды XTEN

Название XTEN	**Аминокислотная последовательность**
AE288_3	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPG
AE284	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSE
AE292	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAP
AE864_2	AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AE867	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AE867_2	SPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT

Название XTEN	Аминокислотная последовательность
	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AE868	PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA

[00231] Дополнительные примеры последовательностей XTEN, которые можно использовать согласно настоящему изобретению изложены в патентных публикациях US 2010/0239554 A1, 2010/0323956 A1, 2011/0046060 A1, 2011/0046061 A1, 2011/0077199 A1 или 2011/0172146 A1, или международных патентных публикациях WO 2010091122 A1, WO 2010144502 A2, WO 2010144508 A1, WO 2011028228 A1, WO 2011028229 A1, WO 2011028344 A2, WO 2014/011819 A2 или WO 2015/023891.

VI. Конфигурации и свойства рекомбинантного полипептида и AAC

[00232] Задачей изобретения является предоставление рекомбинантных полипептидов, которые сконструированы и созданы в форме активируемого пролекарства для придания определенной структуры, активности, фармацевтических и фармакологических свойств. Благодаря конструкции рекомбинантных полипептидов связывающие группировки обладают пониженной способностью связывать свои лиганды, пока компонент XTEN рекомбинантных полипептидов, который экранирует связывающие группировки и уменьшает их аффинность связывания с их лигандами, не высвобождается из композиции при расщеплении высвобождающего сегмента, через который связывающие группировки слиты с XTEN.

[00233] Дизайн композиций по настоящему изобретению, имеющих первую связывающую группировку, разрабатывали с учетом по меньшей мере трех свойств: 1) наличие в составе композиций связывающей группировки, способной связывать желаемый(ые) целевой(ые) клеточный(ые) маркер(ы) на клетке-мишени; 2) наличие в составе композиций одного или более чем одного XTEN, который i) экранирует связывающую группировку и уменьшает аффинность связывания с целевым клеточным маркером, когда композиция находится в интактной форме (таким образом, обеспечивая форму пролекарства), ii) обеспечивает увеличенный период полувыведения при введении субъекту, iii) уменьшает утечку интактной композиции из сосудистой системы в нормальные ткани и органы по сравнению с пораженными тканями (например, опухолью), и iv) обеспечивает улучшенный профиль безопасности по сравнению с традиционными терапевтическими средствами на основе антител; и 3) активация при расщеплении RS одной или более чем одной протеазой млекопитающего в непосредственной близости или при совместной локализации с пораженными тканями или клетками, тем самым высвобождение связывающей группировки, так что связывающая группировка полностью восстанавливает свою аффинность связывания с лигандом-мишенью. При конструировании рассматриваемых композиций использовали преимущества свойств XTEN и высвобождающего сегмента (RS), а их расположение относительно связывающей группировки обеспечивает вышеуказанные свойства, о чем свидетельствуют результаты в приведенных ниже Примерах, иллюстрирующих изобретение.

[00234] В воплощениях рекомбинантных полипептидов, имеющих одну связывающую группировку, один RS и один XTEN, рекомбинантные полипептиды могут иметь в нерасщепленном состоянии следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: FBM-RS1-XTEN1 или XTEN1 -RS1- FBM.

[00235] В других воплощениях изобретения предложены рекомбинантные полипептиды, имеющие две связывающие группировки, которые являются фрагментами антител и являются активируемыми (обозначаются «AAC»), при этом первая связывающая группировка нацелена на эффекторную клетку, а вторая связывающая группировка нацелена на клеточный маркер, связанный с пораженной тканью или клеткой; обе из них обладают специфической аффинностью связывания с соответствующими лигандами. Дизайн композиций по настоящему изобретению, имеющих первую и вторую связывающие группировки (FBM и SBM, соответственно), разрабатывали с учетом по

меньшей мере трех свойств: 1) наличие в составе композиций биспецифических связывающих группировок, способных связывать и соединять вместе эффекторную клетку и клетку-мишень с образованием иммунологического синапса; 2) наличие в составе композиций XTEN, который i) экранирует обе связывающие группировки и уменьшает аффинность связывания с лигандом клетки-мишени и эффекторной клетки, когда композиция находится в интактной форме пролекарства, ii) обеспечивает увеличенный период полувыведения при введении субъекту, iii) уменьшает утечку интактной композиции из сосудистой системы в нормальные ткани и органы по сравнению с пораженными тканями (например, опухолью), и iv) обеспечивает улучшенный профиль безопасности по сравнению с традиционными терапевтическими средствами на основе биспецифических антител; и 3) активация при расщеплении RS одной или более чем одной протеазой млекопитающего в непосредственной близости от пораженных тканей или клеток, тем самым высвобождение связывающих группировок, так что их аффинность связывания с лигандом-мишенью полностью восстанавливается. При дизайне рассматриваемых композиций используются преимущества свойств XTEN и высвобождающего сегмента (RS), а их расположение относительно биспецифических связывающих группировок обеспечивает вышеуказанные свойства, о чем свидетельствуют результаты в приведенных ниже Примерах, иллюстрирующих изобретение.

[00236] Как показано на Фиг. 11 и 12, в приведенных в качестве примера воплощениях две связывающих группировки AAC соединены друг с другом коротким линкером и, в свою очередь, связаны с XTEN пептидом высвобождающего сегмента (RS), который содержит до трех различных сайтов расщепления, что позволяет отделяться связывающим группировкам от XTEN и высвобождаться при расщеплении любого или всех сайтов расщепления. В воплощениях AAC, имеющих две связывающие группировки, один RS и один XTEN1, в нерасщепленном состоянии AAC может иметь следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: SBM-FBM-RS1-XTEN1, FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN1-RS1-SBM-FBM, XTEN1-RS1-FBM-SBM или диатело-RS1-XTEN1 или XTEN1-RS1-диатело, где диатело содержит VL и VH от FBM и SBM. В вышеуказанных конфигурациях AAC, как описано выше, FBM имеет VL и VH, происходящие из антител, обладающих аффинностью связывания с эффекторными клетками, включая антитела из Таблицы 4, VL и VH SBM происходят из антител,

обладающих аффинностью связывания с маркерами клеток-мишеней, включая антитела из Таблицы 5, но не ограничиваясь ими, высвобождающие сегменты имеют последовательности, идентичные на 88-100% последовательностям из Таблицы 1 или Таблицы 2, и XTEN имеют последовательности, идентичные на 90-100% последовательностям из Таблицы 8 или Таблицы 10.

[00237] В других воплощениях изобретения предложены AAC, имеющие две связывающие группировки, два RS и два XTEN. При дизайне указанных AAC стремились дополнительно снизить аффинность связывания нерасщепленных композиций с соответствующими лигандами фрагментов антитела FBM и SBM путем добавления второго XTEN для снижения нежелательного связывания AAC со здоровыми тканями или клетками при введении субъекту, тем самым дополнительно улучшая терапевтический индекс рассматриваемых композиций по сравнению с AAC, имеющими только один RS и один XTEN. Как писано в Примерах, добавление второго RS и второго XTEN приводило к неожиданному уменьшению аффинности связывания интактной нерасщепленной AAC с соответствующими лигандами фрагментов антитела FBM и SBM по сравнению с AAC, имеющими один RS и XTEN, при анализе *in vitro*, а также к снижению токсичности на модели заболевания у животных. В воплощениях AAC, имеющих две связывающие группировки, два RS и два XTEN, в нерасщепленном состоянии AAC может иметь структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM, или XTEN1-RS1-диателo-RS2-XTEN2, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM. В вышеуказанных конфигурациях AAC, как описано выше, FBM имеет VL и VH, происходящие из антител, обладающих аффинностью связывания с эффекторными клетками, включая антитела из Таблицы 4, VL и VH SBM происходят из антител, обладающих аффинностью связывания с маркерами клеток-мишеней, включая антитела из Таблицы 5, но не ограничиваясь ими, высвобождающие сегменты имеют последовательности, идентичные на 88-100% последовательностям из Таблицы 1 или Таблицы 2, и XTEN имеют последовательности, идентичные на 90-100% последовательностям из Таблицы 8 или Таблицы 10.

[00238] Задачей изобретения является то, чтобы аффинность связывания каждой связывающей группировки, высвобождаемой из AAC, была выше для соответствующих

лигандов-мишеней по сравнению со связывающими группировками интактной композиции, которая не была расщеплена, например, при анализе связывания *in vitro*, как описано в данном документе. В одном воплощении аффинность связывания высвобожденного антигена эффекторной клетки с группировкой, связывающей эффекторные клетки, высвобождаемой из композиции путем расщепления RS протеазой, по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 6 раз, или по меньшей мере в 7 раз, или по меньшей мере в 8 раз, или по меньшей мере в 9 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 100 раз, по меньшей мере в 1000 раз, или по меньшей мере в 10000 раз выше по сравнению с группировкой, связывающей эффекторную клетку, у интактной ААС, при определении в клеточном анализе *in vitro* с эффекторной клеткой, имеющей указанный антиген эффекторной клетки на своей клеточной поверхности, или в ELISA с иммобилизованным антигеном эффекторной клетки при анализе в сопоставимых условиях, например, в эквивалентных молярных концентрациях. В одном воплощении антиген эффекторной клетки представляет собой CD3. В других воплощениях аффинность связывания маркера-мишени или антигена клетки-мишени с группировкой, связывающей клетки-мишени, высвобождаемой из композиции путем расщепления RS протеазой, по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 6 раз, или по меньшей мере в 7 раз, или по меньшей мере в 8 раз, или по меньшей мере в 9 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 100 раз, по меньшей мере в 1000 раз, или по меньшей мере в 10000 раз выше по сравнению с группировкой, связывающей клетки-мишени, у интактной ААС, при определении в клеточном анализе *in vitro* с опухолевой клеткой, имеющей указанный антиген на своей клеточной поверхности, или в ELISA с иммобилизованным антигеном эффекторной клетки при анализе в сопоставимых условиях, например, в эквивалентных молярных концентрациях. В одном воплощении вышеизложенного маркер-мишень или антиген клетки-мишени выбран из группы, состоящей из интегрина альфа-4, ангиопоэтина 2 (Ang2), B7-H3, B7-H6, CEACAM5, cMET, CTLA4, FOLR1, EpCAM, CCR5, CD 19, HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1 (EGFR), PD-L1, PSMA, CEA, MUC1 (муцин), MUC-2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16 hCG, Льюис-Y , CD20, CD33, CD38, CD30, CD56 (NCAM), CD133, ганглиозида GD3; 9-O-ацетил-GD3, GM2, Globo H, фукозил GM1, GD2, карбоангидразы IX, CD44v6, белка Sonic Hedgehog (Shh), Wue-1,

плазматического антигена 1, хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), CCR8, 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), мезотелина, антигена A33, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), Ly-6, десмоглеина 4, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), CD25, ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), сиалированного антигена Tn (s TN), антигена активации фибробластов (FAP), эндосиалина (CD248), рецептора эпидермального фактора роста варианта III (EGFRvM), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), SAS, CD63, TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антиген), рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), антигена Cora, CD7, CD22, CD70, CD79a, CD79b, G250 MT-MMPs, антигена F19, CA19-9, CA-125, альфа-фетопротеина (AFP), VEGFR1, VEGFR2, DLK1, SP17, ROR1 и EphA2. В воплощениях данного параграфа, в частности, предусматривается, что экранирующий эффект XTEN распространяется на обе связывающие группировки описанных выше воплощений интактной пролекарственной формы активируемой рекомбинантной полипептидной композиции и что после высвобождения XTEN из AAC при расщеплении RS связывающая способность соответствующих связывающих группировок полностью восстанавливается.

[00239] Не привязываясь к конкретной теории, полагают, что при использовании связывающей группировки AAC в биспецифическом формате, как описано выше, высвобожденные слитые фрагменты антител FBM и SBM способны убивать клетки-мишени путем рекрутирования цитотоксических эффекторных клеток без необходимости какой-либо предварительной стимуляции и/или костимуляции. Кроме того, независимость эффекторной клетки от предварительной стимуляции и/или костимуляции может существенно способствовать исключительно высокой цитотоксичности, опосредуемой высвобожденными связывающими группировками. В некоторых воплощениях высвобождаемая FBM разработана с такой специфичностью связывания, что она способна связывать и соединять вместе цитотоксические эффекторные клетки (например, Т-клетки, NK-клетки, цитокин-индуцированные киллерные клетки (CIK-клетки) с заданными маркерами клеток-мишеней с помощью SBM (которая остается связанной с FBM линкерным пептидом), которая обладает специфичностью связывания с целевыми клеточными маркерами, ассоциированными с опухолевыми клетками или раковыми клетками, тем самым образуя иммунологический синапс и опосредуя избирательное,

направленное и локализованное действие высвобождаемых цитокинов и эффекторных молекул против опухолевой или раковой клетки-мишени, в результате чего опухолевые или раковые клетки повреждаются или разрушаются, что оказывает на субъекта терапевтический эффект. В одном воплощении высвобожденная FBM, которая связывается с антигеном эффекторной клетки, способна модулировать одну или несколько функций эффекторной клетки, что вызывает или способствует цитолитическому действию на опухолевую клетку-мишень. Антиген эффекторной клетки может экспрессироваться эффекторными клетками или другими клетками. В одном воплощении антиген эффекторной клетки экспрессируется на клеточной поверхности эффекторной клетки. Неограничивающими примерами являются CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, CD38, CD45RO, CD56, CD57, CD69, CD95, CD107 и CD154. Таким образом, специалисту в данной области техники будет понятно, что конфигурации композиций по настоящему изобретению предназначены для избирательной или непропорциональной доставки активной формы композиции к опухолевой ткани-мишени или раковой клетке-мишени по сравнению со здоровой тканью или здоровыми клетками субъекта, которому вводят композицию, с результирующим терапевтическим эффектом. Как очевидно из вышеизложенного, в изобретении предложено большое семейство полипептидов в конфигурациях, приспособленных для достижения желаемых свойств.

[00240] Задачей изобретения является то, чтобы дизайн AAC с экранированием XTEN интактной AAC и одновременным уменьшением связывания с Т-клетками и тканями-мишенями позволял уменьшать образование Th1-ассоциированных цитокинов Т-клеток или других провоспалительных медиаторов при системном воздействии при введении субъекту, чтобы побочные эффекты и профиль безопасности в целом были улучшены по сравнению с биспецифическими связывающими композициями, не связанными с объемной группировкой, такой как XTEN. Как важный компонент клеточного иммунитета, продукция IL-2, TNF-альфа и IFN-гамма является отличительной особенностью ответа Th1 (Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). Ann Allergy Asthma Immunol. 2000. 85(1):9-18), особенно у Т-клеток, стимулированных анти-CD3 (Yoon, S.H. Selective addition of CXCR3+CCR4-CD4+ Th1 cells enhances generation of cytotoxic T cells by dendritic cells *in vitro*. Exp Mol Med. 2009. 41(3):161–170), а Il-4, IL-6 и IL-10 также являются провоспалительными цитокинами, важными для цитотоксического ответа в случае композиций биспецифических антител (Zimmerman, Z., et al. Unleashing the clinical

power of T cells: CD19/CD3 bi-specific T cell engager (BiTE®) antibody composition blinatumomab as a potential therapy. Int. Immunol. (2015) 27(1): 31-37). В одном воплощении интактная нерасщепленная ААС демонстрирует по меньшей мере в 3 раза или по меньшей мере в 4 раза или по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 6 раз или по меньшей мере в 7 раз или по меньшей мере в 8 раз или по меньшей мере в 9 раз или по меньшей мере в 10 раз или по меньшей мере в 20 раз или по меньшей мере в 30 раз или по меньшей мере в 50 раз или по меньшей мере в 100 раз или по меньшей мере в 1000 раз меньшую способность вызывать образование Th1 и/или провоспалительных цитокинов при приведении в контакт интактной нерасщепленной ААС с эффекторной клеткой и клеткой-мишенью в анализе высвобождения клетками цитокинов *in vitro* (как описано в Примерах ниже) по сравнению с уровнями цитокинов, стимулированными соответствующими высвобождаемыми первой и второй связывающими группировками (которые остаются связанными вместе после высвобождения) обработанной протеазой ААС в анализе высвобождения клетками цитокинов *in vitro*, который выполняют в сопоставимых условиях, например, в эквивалентных молярных концентрациях. Неисчерпывающими примерами Th1 и/или провоспалительных цитокинов являются IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа и IFN-гамма. В одном воплощении продукцию Th1 цитокинов определяют в исследовании *in vitro*, включающем эффекторные клетки, такие как PBMC или CD3+ Т-клетки, имеющие опухолеспецифический маркерный антиген, выбранный из группы, состоящей из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, ангиопоэтина 2, B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-

подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1). В другом воплощении определяемым цитокином является IL-2. В другом воплощении определяемым цитокином является TNF-альфа. В другом воплощении определяемым цитокином является IFN-гамма. В другом воплощении интактная нерасщепленная AAC, вводимая субъекту, имеющему опухоль с целевым клеточным маркером, который может связываться высвобождаемой связывающей группировкой AAC, демонстрирует по меньшей мере в 2 раза или по меньшей мере в 4 раза или по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 6 раз или по меньшей мере в 7 раз или по меньшей мере в 8 раз или по меньшей мере в 9 раз или по меньшей мере в 10 раз или по меньшей

мере в 20 раз или по меньшей мере в 30 раз или по меньшей мере в 50 раз или по меньшей мере в 100 раз или по меньшей мере в 1000 раз меньшую способность вызывать системное образование Th1 и/или провоспалительных цитокинов у субъекта по сравнению с уровнями цитокинов, образующимися соответствующими высвобождаемыми связывающими группировками обработанной протеазой ААС у сопоставимого субъекта при введении в опухоль эквивалентных молярных концентраций. В вышеупомянутом воплощении цитокины можно определять в образце крови, жидкости или ткани, взятом у субъекта. В вышеупомянутом воплощении субъект может представлять собой мышь, крысу, обезьяну и человека. Преимуществом рассматриваемых ААС является то, что цитолитические свойства композиций не требуют предварительной стимуляции цитокинами; что формирования иммунологического синапса эффекторной клеткой, связанной с клеткой-мишенью связывающими группировками, достаточно для осуществления цитолиза или апоптоза клетки-мишени. Тем не менее, продукция провоспалительных цитокинов является важным маркером для оценки активности или эффектов рассматриваемых ААС; как в исследовании *in vitro*, так и при мониторинге лечения субъекта с опухолью.

[00241] В соответствии с упомянутыми выше воплощениями связывающих группировок, предпочтительно, если сайт связывания, распознающий маркерный антиген клетки-мишени, имеет высокую аффинность связывания для захвата клеток-мишеней, подлежащих разрушению, с высокой эффективностью. Преимущество ААС по настоящему изобретению заключается в том, что их можно использовать несколько раз для уничтожения опухолевых клеток, поскольку в предпочтительных воплощениях связывающая клетку-мишень группировка высвобождаемой связывающей клетку-мишень группировки имеет аффинность, характеризующуюся значением K_d в диапазоне от 10^{-7} до 10^{-10} М в анализе связывания *in vitro*. Если аффинность связывания биспецифической связывающей группировки с маркером клетки-мишени слишком велика, композиция связывается с экспрессирующей клеткой-мишенью и остается на ее поверхности, что делает ее неспособной высвобождаться и связываться с другой клеткой. В одном воплощении высвобождаемая связывающая эффекторную клетку группировка рассматриваемой ААС имеет константу связывания от 10^{-5} до 10^{-8} М в анализе связывания *in vitro*, примеры которого подробно описаны в Примерах ниже. В другом воплощении высвобождаемая связывающая эффекторные клетки группировка (FBM) рассматриваемой

AAC имеет более низкую аффинность связывания с лигандом эффекторной клетки по меньшей мере на один порядок ниже по сравнению с большей аффинностью связывания SBM с маркером клетки-мишени, которую определяют как константу K_d в анализе *in vitro*.

[00242] В другом аспекте характерной особенностью разработанных композиций является то, что, когда RS AAC расщепляется протеазой млекопитающего в окружении клетки-мишени и превращается из формы пролекарства в активированную форму или форму апопротеина при расщеплении и высвобождении биспецифических связывающих группировок и XTEN из композиции, слитые FBM и SBM связываются и соединяют вместе эффекторную клетку (например, Т-клетку, несущую CD3) и опухолевую или раковую клетку, несущую целевой клеточный маркер посредством SBM, после чего эффекторная клетка активируется. В одном воплощении, где RS AAC расщепляется и связывающие группировки высвобождаются, последующее одновременное связывание эффекторной клетки и клетки-мишени приводит к по меньшей мере 3-кратной или 10-кратной, или 30-кратной, или 100-кратной, или 300-кратной, или 1000-кратной активации эффекторной клетки, где активация оценивается по продукции цитокинов, цитолитических белков или лизису клетки-мишени в анализе *in vitro* с использованием клеток. В другом воплощении одновременное связывание Т-клетки, несущей антиген CD3, и опухолевой клетки, несущей целевой клеточный маркер, при помощи высвобождаемых связывающих группировок образует иммунологический синапс, где связывание приводит к высвобождению эффекторных молекул, происходящих из Т-клеток, способных лизировать опухолевую клетку. Неограничивающие примеры анализа *in vitro* для измерения активации эффекторных клеток и/или цитолиза включают анализ целостности клеточной мембраны, анализ смешанной клеточной культуры, FACS-анализ с иодидом пропидия, анализ поступления трипанового синего, фотометрический анализ высвобождения фермента, ELISA, радиометрический анализ высвобождения 51Cr, флуориметрический анализ высвобождения европия, анализ высвобождения кальцеина-AM, фотометрический MTT-анализ, XTT-анализ, WST-1-анализ, анализ с аламаровым синим, радиометрический анализ включения 3H-Thd, клоногенный анализ для измерения активности деления клеток, флуориметрический анализ с родамином 123 для измерения митохондриального трансмембранного градиента, анализ апоптоза по экспозиции фосфатидилсерина при помощи FACS, TUNEL-анализ на основе ELISA, анализ каспазной активности и анализ морфологии клеток или другие известные в области техники анализы

цитокинов, цитолитических белков или клеточного лизиса или способы из Примеров, приведенных ниже.

[00243] Специалисту в данной области техники будет понятно, что в контексте лечения субъекта с использованием рассматриваемых композиций ААС находятся в форме пролекарства и преобразуются в более активную форму при поступлении в определенное клеточное окружение под действием протеаз, ко-локализованных с пораженной тканью или клеткой. После высвобождения из композиции под действием протеаз(ы) в ткани-мишени первая связывающая группировка со специфичным связыванием с антигеном эффекторной клетки, и связанная вторая связывающая группировка со специфичным связыванием с опухолеспецифичным маркером или антигеном клетки-мишени, восстанавливает свою полную способность связываться и соединять эффекторную клетку с клеткой-мишенью, образуя иммунологический синапс. Образование иммунологического синапса вызывает активацию эффекторной клетки, причем различные сигнальные пути включают транскрипцию нового гена и высвобождение, посредством экзоцитоза, эффекторных молекул, содержащихся в везикулах. В зависимости от типа эффекторной клетки высвобождаются различные цитокины и лимфокины; например, Т-хелперные клетки 1 типа (Th1) высвобождают такие цитокины, как IFN-гамма, IL-2 и TNF-альфа, а Т-хелперные клетки 2 типа (Th2) высвобождают такие цитокины, такие как IL-4, IL-5, IL-10 и IL -13, которые стимулируют В-клетки, а цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) высвобождают цитотоксические молекулы, такие как перфорин и гранзимы, которые убивают мишень (в совокупности «эффекторные молекулы»). В частности, предполагается, что при одновременном связывании и соединении эффекторной клетки с опухолевой клеткой-мишенью посредством высвобождаемых биспецифических связывающих группировок ААС при очень низких соотношениях эффектора и мишени (E:T) на опухолевую клетку воздействует эффекторные молекулы, которые высвобождаются эффекторной клеткой в иммунологический синапс между клетками, что приводит к повреждению, перфорин-опосредованному лизису, гранзим-В индуцированной гибели клеток и/или апоптозу опухолевой клетки. Таким образом, в другом аспекте характерной особенностью разработанной композиции является то, что, когда активируемую рекомбинантную полипептидную композицию вводят субъекту с опухолью, пролекарственная форма остается в системе кровообращения в нормальной ткани, но способна к утечке из более проницаемой сосудистой сети опухоли, так что

пролекарственная форма активируется протеазами, ко-локализованными с опухолью, и что высвобождаемые связывающие группировки связывают и соединяют вместе эффекторную клетку (например, Т-клетку) и опухолевую клетку, экспрессирующую целевой клеточный маркер, на который нацелена SBM композиции, после чего активируется эффекторная клетка и происходит лизис опухолевой клетки. В одном воплощении вышеизложенного высвобожденная связывающая группировка в опухоли субъекта, связанная как с опухолевой клеткой, так и с эффекторной клеткой, проявляет способность активировать эффекторные клетки, которая по меньшей мере 10-кратно или по меньшей мере 30-кратно, или по меньшей мере, 100-кратно, или по меньшей мере 200-кратно, или по меньшей мере 300-кратно, или по меньшей мере 400-кратно, или по меньшей мере 500-кратно, или по меньшей мере 1000-кратно выше по сравнению с соответствующей интактной нерасщепленной AAC. В другом воплощении вышеизложенного высвобожденная связывающая группировка в опухоли субъекта, связанная как с опухолевой клеткой, так и с эффекторной клеткой, проявляет способность лизировать опухолевые клетки, которая по меньшей мере, 10-кратно или по меньшей мере 30-кратно, или по меньшей мере, 100-кратно, или по меньшей мере 200-кратно, или по меньшей мере 300-кратно, или по меньшей мере 400-кратно, или по меньшей мере 500-кратно, или по меньшей мере 1000-кратно выше по сравнению с соответствующей интактной нерасщепленной AAC. В вышеприведенных воплощениях активацию эффекторных клеток и/или цитотоксичность можно анализировать с помощью стандартных способов, известных в данной области техники, таких как цитометрическое измерение активированных эффекторных клеток, анализ цитокинов, измерение размера опухоли или гистопатология. В вышеприведенных воплощениях субъектом может быть мышь, крыса, собака, обезьяна и человек. В частности, предполагается, что композиции по настоящему изобретению сконструированы таким образом, что они имеют повышенный терапевтический индекс и пониженную токсичность или побочные эффекты, что достигается благодаря сочетанию экранирующего эффекта и стерического препятствия XTEN в отношении аффинности связывания связывающих группировок формы пролекарства, и при этом способны высвобождать биспецифические связывающие группировки (что достигается путем включения последовательностей расщепления в RS) вблизи или внутри ткани-мишени (например, опухоли), которая продуцирует протеазу, для которой RS является субстратом.

[00244] Как правило, включение в композиции XTEN с совокупной длиной, превышающей примерно 400 остатков, приводит к увеличению гидродинамических радиусов, увеличению кажущейся молекулярной массы и увеличению коэффициента кажущейся молекулярной массы рекомбинантного белка по сравнению с белком, не связанным с XTEN. Например, введение XTEN может эффективно увеличить гидродинамический радиус композиций по изобретению, чтобы он превышал размер пор клубочков, составляющий примерно 3-5 нм (что соответствует кажущейся молекулярной массе примерно 70 кДа) (Caliceti. 2003. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. Adv Drug Deliv Rev 55:1261-1277), что приводит к снижению почечного клиренса циркулирующих белков с соответствующим увеличением конечного периода полувыведения. Увеличенный гидродинамический радиус, сообщаемый XTEN, также уменьшает утечку интактной пролекарственной формы AAC из сосудистой системы в области нормальной, здоровой ткани со средним размером пор 5-12 нм, но допускает выход молекул интактной композиции из кровеносных сосудов, которые пронизывают опухоли, где соединения эпителиальных клеток являются более пористыми. Давно известно, что различные функции сосудистой сети опухоли нарушены, например, более высокая проницаемость сосудов по сравнению с нормальными сосудами (Duran-Reynals, F. Studies on the localization of dyes and foreign proteins in normal and malignant tissue. Am J Cancer 35:98–107 (1939); Babson AL, Winnick T. Protein transfer in tumor-bearing rats. Cancer Res14:606–611 (1954)). Эти нарушенные функции способствуют более высокой концентрации белков плазмы, обнаруживаемых в тканях опухоли, по сравнению с нормальными тканями; феномен был обнаружен Maeda с коллегами (Matsumura Y, Maeda H. Cancer Res 46:6387–6392 (1986); Maeda H, Matsumura Y. Tumoritropic and lymphotropic principles of macromolecular drugs. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 6:193–210 (1989), которые описали его как эффект улучшенной проницаемости и удержания, возникающий в результате сочетания повышенной проницаемости опухолевых кровеносных сосудов и уменьшенной скорости очистки функциональных лимфатических сосудов в опухоли, в результате чего макромолекулы накапливаются в опухолях. Общеизвестно, что физиологический верхний предел размера пор в стенках капилляров большинства несинусоидальных кровеносных капилляров для прохождения неэндогенных макромолекул составляет от 5 до 12 нм (Hemant Sarin. J Angiogenes Res. 2010; 2:14), в то время как промежутки между эндотелиальными клетками в гематоэнцефалическом

барьере как опухолей головного мозга, так и периферических опухолей, как сообщается, имеют диаметр от 40 нм до 200 нм или более (Sarin, H. et al. J. Translational Medicine 2009 7:51). ААС, представляющую собой объект изобретения, разработали так, чтобы извлечь пользу из различий в размере пор путем добавления XTEN, так что утечка интактной ААС в нормальные ткани уменьшается, но в неплотной сосудистой сети в окружении опухоли или в других очагах воспаления, интактная конструкция способна к утечке из сосудов и может активироваться протеазами в окружении опухоли с высвобождением группировок, связывающих эффекторные клетки и клетки-мишени. Что касается RS, конструкция ААС использует то обстоятельство, что, когда ААС находится в непосредственной близости от пораженных тканей; например, опухоли, которая продуцирует одну или несколько протеаз, последовательности RS, которые чувствительны к одной или нескольким протеазам, экспрессируемым опухолью, способны расщепляться протеазами (более подробно описано выше). Действие протеазы расщепляет высвобождающий сегмент (RS) композиции, отделяя связывающие группировки от XTEN, в результате чего образуются компоненты с уменьшенной молекулярной массой и гидродинамическими радиусами, в частности, высвобождаемые связывающие группировки. Понятно, что уменьшение молекулярной массы и гидродинамического радиуса композиции также придает свойство, заключающееся в том, что высвобождаемые связывающие группировки могут более свободно перемещаться в растворе, перемещаться через более мелкие поры в тканях и опухолях и легче просачиваться из больших пор сосудистой сети опухоли и легче проникать в опухоль, в результате чего повышается способность прикрепляться и связывать вместе эффекторную клетку и опухолевую клетку. Такое свойство может быть измерено в различных анализах.

[00245] В одном воплощении, где RS ААС расщепляется протеазой млекопитающего, при расщеплении и высвобождении биспецифических связывающих группировок и XTEN из ААС связывающие группировки имеют коэффициент диффузии в фосфатно-солевом буфере, который по меньшей мере в 2 раза, в 3 раза, в 4 раза, в 5 раз, в 6 раз, в 7 раз, в 8 раз, в 9 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 50 раз или в 100 раз выше по сравнению с интактной композицией ААС. В другом воплощении кажущаяся молекулярная масса интактной композиции ААС составляет по меньшей мере в 2 раза по меньшей мере в 3 раза по меньшей мере в 4 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз больше, чем связывающих группировок, высвобождающихся при расщеплении RS

протеазой млекопитающего, когда кажущуюся молекулярную массу определяют с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC). В другом воплощении гидродинамический радиус интактной композиции AAC составляет по меньшей мере в 2 раза по меньшей мере в 3 раза по меньшей мере в 4 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз больше, чем связывающих группировок, высвобождающихся при расщеплении RS протеазой млекопитающего, когда гидродинамический радиус определяют с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC). В другом воплощении изобретения предложена AAC, в которой при расщеплении RS для высвобождения связывающих группировок и XTEN из AAC гидродинамический радиус высвобождаемых связывающих группировок составляет менее чем приблизительно 30% или менее чем приблизительно 40%, или менее примерно 50% гидродинамического радиуса интактной AAC, когда гидродинамический радиус оценивают с помощью эксклюзионной хроматографии. В другом воплощении изобретения предложена AAC, в которой после расщепления RS для высвобождения связывающих группировок и XTEN из AAC гидродинамический радиус высвобождаемых связывающих группировок составляет менее чем приблизительно 5 нм или менее чем приблизительно 4 нм, или менее чем приблизительно 3 нм, когда гидродинамический радиус определяют с помощью эксклюзионной хроматографии. В другом воплощении изобретения предложена AAC, в которой после расщепления RS для высвобождения связывающих группировок и XTEN из AAC гидродинамический радиус высвобождаемых связывающих группировок составляет менее чем приблизительно 5 нм или менее чем приблизительно 4 нм, или менее чем приблизительно 3 нм, когда гидродинамический радиус определяют с помощью эксклюзионной хроматографии, имеющая большую способность проникать в опухолевую ткань по сравнению с интактной AAC. В другом воплощении изобретения предложена AAC, в котором гидродинамический радиус интактной нерасщепленной AAC больше, чем приблизительно 8 нм, или больше, чем приблизительно 9 нм, или больше, чем приблизительно 10 нм, или больше, чем приблизительно 12 мм, когда гидродинамический радиус определяют методом эксклюзионной хроматографии.

[00246] Предполагается, что композиции по настоящему изобретению благодаря своей конструкции и связи с XTEN будут обладать улучшенными фармакокинетическими свойствами при введении субъекту по сравнению с соответствующими связывающими группировками, не связанными с XTEN. В одном воплощении AAC композиция, вводимая

субъекту в терапевтически эффективной дозе, демонстрирует конечный период полувыведения у субъекта, который увеличен при введении или после введения субъекту по сравнению с соответствующими связывающими группировками, не связанными с композицией, по меньшей мере примерно 2-кратно, 3-кратно, 4-кратно, 5-кратно, 6-кратно, 7-кратно, 8-кратно, 9-кратно, 10-кратно, 20-кратно, 30-кратно, 40-кратно или 100-кратно. В другом воплощении композиция ААС, вводимая субъекту в терапевтически эффективной дозе, демонстрирует увеличенную площадь под кривой (AUC), при введении или после введения субъекту, по сравнению с соответствующими связывающими группировками, не связанными с композицией, по меньшей мере на 25%, 50%, 100%, 200% или 300% или более. В другом воплощении композиция ААС, вводимая субъекту в терапевтически эффективной дозе, демонстрирует меньший объем распределения при введении или после введения субъекту, по сравнению с соответствующими связывающими группировками, не связанными с композицией, по меньшей мере на 25%, 50%, 100%, 200% или 300%. В одном воплощении композиция ААС, вводимая субъекту в терапевтически эффективной дозе, после введения субъекту демонстрирует конечный период полувыведения по меньшей мере приблизительно 20 часов или по меньшей мере приблизительно 30 часов, или по меньшей мере приблизительно 32 часа, или по меньшей мере приблизительно 48 часов, или по меньшей мере, приблизительно 72 часа, или по меньшей мере приблизительно 96 часов, или по меньшей мере приблизительно 120 часов, или по меньшей мере приблизительно 144 часа, или по меньшей мере приблизительно 7 суток, или по меньшей мере приблизительно 10 суток, или по меньшей мере приблизительно 14 суток. В другом аспекте предполагается, что из-за конструкции рассматриваемой ААС, которая предпочтительно активируются протеазой(ами), ассоциированными с пораженной тканью, такой как опухоль, но не ограничиваясь ею, концентрация высвобождаемых связывающих группировок в кровотоке субъекта будет низкой, тем самым способствуя улучшенному профилю безопасности и снижению частоты побочных эффектов по сравнению с биспецифическими композициями, не имеющими защитного XTEN и высвобождающего сегмента. В одном воплощении изобретения предложена ААС, у которой концентрация в плазме Cmax связывающих группировок, высвобождаемых из ААС путем расщепления RS протеазой, способной расщеплять RS композиции при однократном введении или после однократного введения субъекту композиции химерного полипептида не превышает примерно 0,01 нг/мл, или

примерно 0,03 нг/мл, или примерно 0,1 нг/мл, или примерно 0,3 нг/мл, или примерно 1 нг/мл, или примерно 10 нг/мл, или примерно 100 нг/мл. В другом воплощении изобретения предложена ААС, где концентрация в плазме Cmax связывающих группировок, высвобождаемых из ААС после однократного введения химерной полипептидной композиции субъекту, у которого RS расщепляется протеазой, способной расщеплять RS композиции по меньшей мере в 10 раз ниже, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 1000 раз ниже, чем уровни интактной ААС в плазме у того же субъекта. В воплощениях, упомянутых в параграфе выше, субъектом является мышь или крыса, или собака, или обезьяна, или человек.

[00247] Конструкции ААС, описанные в данном документе, придают множество терапевтических преимуществ по сравнению с традиционными моноклональными антителами и другими биспецифическими молекулами меньшего размера. Особо следует отметить условную активацию ААС по данному изобретению. Конструкции обладают пониженной способностью связывать предполагаемые маркеры клеток-мишеней из-за эффекта экранирования объемного неструктурированного XTEN, привязанного к ААС высвобождающим сегментом. Таким образом, специфическая активность приведенных в качестве примера композиций по данному изобретению по отношению к здоровой нормальной ткани значительно снижена по сравнению с активностью аналогичных антител и фрагментов антител. Способность полипептидов активироваться в нужном месте действия (например, в непосредственной близости от пораженной ткани, такой как опухоль или раковая клетка), оставаясь неактивными во время продвижения к этому участку, является прогрессом в области иммуно-онкологической терапии, представляя перспективные мощные и специфические терапевтические средства с улучшенным терапевтическим индексом, а также легко конструируемым и технологичным форматом.

VII. СПОСОБЫ И ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПОЛИПЕПТИДНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

[00248] В другом аспекте данного изобретения предложены расщепляемые композиции рекомбинантных полипептидов и композиции активируемых антител и фармацевтические композиции, содержащие рекомбинантный полипептид или активируемые антитела, которые особенно эффективны в медицинских учреждениях; например, для профилактики, лечения и/или облегчения некоторых видов рака, опухолей или воспалительных

заболеваний.

[00249] Для создания рекомбинантных полипептидных композиций для применения в способах лечения субъекта с раковым заболеванием, использовали ряд терапевтических стратегий, включая модуляцию Т-клеточных ответов путем нацеливания на сигнальный путь TcR, в частности, с использованием VL- и VH-частей моноклональных антител против CD3 человека, которые широко используются в клинике в иммуносупрессивных схемах. CD3-специфическое моноклональное антитело OKT3 было первым таким моноклональным антителом, одобренным для использования у людей (Sgro, Toxicology 105 (1995), 23-29), и широко применяется в клинике в качестве иммуносупрессивного агента при трансплантации (Chatenoud L: Immunologic monitoring during OKT3 therapy. Clin Transplant 7:422–430, 1993). Кроме того, моноклональные антитела против CD3 могут индуцировать частичную передачу сигналов Т-клеток и клональную анергию (Smith, J. Exp. Med. 185 (1997), 1413-1422). OKT3 реагирует и блокирует функцию комплекса CD3 в мембране Т-клеток; комплекс CD3 связан с антиген-распознающей структурой Т-клеток (TCR), критически важной для передачи сигнала. Эти и другие подобные CD3-специфические антитела способны индуцировать различные Т-клеточные ответы, включая продукцию цитокинов (Von Wussow, Human gamma interferon production by leukocytes induced with monoclonal antibodies recognizing T cells. J. Immunol. 127:1197-1200 (1981)), пролиферацию и индуцирование супрессорных Т-клеток. Предпринимали попытки использовать цитотоксические Т-клетки для лизиса раковых клеток при раке. Не будучи связанными какой-либо теорией, полагают, что для осуществления лизиса клеток-мишеней цитотоксическим Т-клеткам необходим прямой контакт между клетками; TCR на цитотоксической Т-клетке должен распознавать и задействовать соответствующий антиген на клетке-мишени. Это создает иммунологический синапс, который, в свою очередь, инициирует сигнальный каскад в цитотоксической Т-клетке, вызывая активацию Т-клеток и продукцию различных цитотоксических цитокинов и эффекторных молекул. Перфорин и гранзимы являются высокотоксичными молекулами, которые хранятся в предварительно сформированных гранулах, которые находятся в активированных цитотоксических Т-клетках. После распознавания клетки-мишени цитоплазматические гранулы вовлеченных цитотоксических Т-клеток мигрируют к мембране цитотоксической Т-клетки, в результате сливаясь с ней и направленно высвобождая свое содержимое в иммунологический синапс, образуя поры в мембране клетки-мишени, разрушая

плазматическую мембрану опухолевой клетки. Созданная пора служит входом для гранзимов; семейства сериновых протеаз, которые вызывают апоптоз опухолевых клеток. В изобретении раскрыты способы применения ААС, разработанной для нацеливания на ряд злокачественных клеток, таких как опухоли, в дополнение к эффекторным клеткам, чтобы инициировать лизис клеток-мишеней и оказывать благоприятный терапевтический эффект, поскольку ААС созданы таким образом, что одна связывающая группировка связывает и задействует CD3 для активации цитотоксической Т-клетки, тогда как вторая связывающая группировка может быть предназначена для нацеливания на множество различных маркеров клеток-мишеней, характерных определенным злокачественным новообразованиям; соединяя их вместе с образованием иммунологического синапса. Преимуществом конструкции является физическое связывание цитотоксической эффекторной клетки и раковой клетки, что устраняет необходимость в процессинге антигена, MHCI/ß2-микроглобулине, а также костимулирующих молекулах. Примеры важных маркеров опухолевых клеток включают, но не ограничиваются маркерами из Таблицы 5. Спектр опухолеспецифических маркеров (более подробно описанных выше), которые могут применяться в различных воплощениях рассматриваемых композиций ААС, определяет возможность применения полученных композиций против различных видов рака, включая солидные опухоли и гемобластозы. В одном воплощении изобретения предложен способ лечения субъекта с опухолью. Опухоль, подлежащая лечению, может содержать опухолевые клетки, происходящие из клетки, выбранной из группы, состоящей из стромальных клеток, фибробластов, миофибробластов, глиальных клеток, эпителиальных клеток, жировых клеток, лимфоцитарных клеток, сосудистых клеток, гладкомышечных клеток, мезенхимных клеток, клеток ткани молочной железы, клеток предстательной железы, клеток почки, клеток головного мозга, клеток толстой кишки, клеток яичников, клеток матки, клеток мочевого пузыря, клеток кожи, клеток желудка, клеток мочеполового тракта, клеток шейки матки, клеток матки, клеток тонкой кишки, клеток печени, клеток поджелудочной железы, клеток желчного пузыря, клеток желчных протоков, клеток пищевода, клеток слюнной железы, клеток легкого и клеток щитовидной железы. Дополнительным преимуществом композиций является то, что поскольку цитотоксические эффекторные клетки не потребляются во время повреждения/разрушения связанной раковой клетки-мишени, после лизиса одной клетки-мишени активированная эффекторная клетка может высвобождаться и перемещаться

через местную ткань в направлении других раковых клеток-мишеней, связывать антиген-мишень и инициировать лизис следующих клеток. Кроме того, предполагается, что в локальном окружении, таком как солидная опухоль, высвобождение молекул эффекторных клеток, таких как перфорин и гранзимы, приведет к повреждению опухолевых клеток, которые соседствуют, но не связаны с биспецифическими связывающими доменами заданной молекулы, что приведет к остановке роста или регрессии опухоли.

[00250] Соответственно, понятна полезность изобретения; что после введения терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей ААС, описанной в настоящем документе, субъекту с раком или опухолью, имеющими целевой клеточный маркер, на композицию могут воздействовать протеазы, связанные или ко-локализованные с раковыми или опухолевыми клетками, высвобождая слитые FBM и SBM, так что в результате связывания клетки-мишени и эффекторной клетки может образоваться иммунологический синапс, в результате чего эффекторные молекулы, происходящие из эффекторных клеток, способные лизировать клетку-мишень, высвобождаются в синапс, вызывая апоптоз, цитолиз или гибель раковой или опухолевой клетки-мишени. Кроме того, специалисту в данной области должно быть понятно, что применение ААС может приводить к устойчивому и более генерализованному полезному терапевтическому эффекту, чем «единичное уничтожение», когда образуется иммунологический синапс благодаря связыванию высвобождающихся связывающих доменов с эффекторной клеткой и раковой клеткой-мишенью.

[00251] В одном аспекте изобретение относится к способам лечения заболевания у субъекта, такого как рак или воспалительное расстройство. В некоторых воплощениях настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид или ААС, описанные в данном документе. Терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела индивидуума и способность антитела или части антитела вызывать у индивидуума желаемый ответ. Терапевтически эффективное количество также представляет собой количество, в котором любые токсические или вредные эффекты композиций по настоящему изобретению

перевешиваются терапевтически полезными эффектами. Профилактически эффективное количество относится к количеству фармацевтической композиции, требуемому в течение периода времени, необходимому для достижения желаемого профилактического результата.

[00252] В одном воплощении способа лечения заболевания у субъекта заболевание, подлежащее лечению, может представлять собой карциномы, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лимфому из мантийных клеток, бластому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак предстательной железы, злокачественные новообразования головы и шеи, любую форму рака кожи, меланому, рак мочеполовых путей, рак яичников, рак яичников со злокачественным асцитом, карциноматоз брюшины, серозную карциному матки, рак эндометрия, рак шейки матки, колоректальный рак, эпителиальные злокачественные новообразования брюшной полости со злокачественным асцитом, рак матки, мезотелиому брюшины, рак почки, рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, рак желудка, рак пищевода, рак желудка, рак тонкой кишки, рак печени, гепатокарциному, гепатобластому, липосаркому, рак поджелудочной железы, рак желчного пузыря, рак желчевыводящих путей, карциному слюнной железы, рак щитовидной железы, эпителиальный рак, аденокарциному, саркомы любого происхождения, первичные гемобластозы, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастению гравис, Базедову болезнь, тиреоидит Хашимото или синдром Гудпасчера. Терапевтически эффективное количество может оказывать благоприятное воздействие, помогая лечить (например, излечивать или уменьшать тяжесть) или предотвращать (например, уменьшать вероятность рецидива) рак или опухоль. В другом воплощении способа лечения заболевания у субъекта фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде двух или более терапевтически эффективных доз, где введение осуществляют два раза в неделю, один раз в неделю, каждые две недели, каждые три недели или ежемесячно. В другом воплощении способа фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде двух или более терапевтически эффективных доз в течение периода по меньшей мере двух недель, или по меньшей мере одного месяца, или по меньшей мере двух месяцев, или по меньшей мере трех месяцев, или по меньшей мере четырех месяца или по меньшей мере пяти месяцев или по меньшей

мере шести месяцев. В другом воплощении способа субъекту вводят первую низкую примирующую дозу, а затем одну или несколько более высоких поддерживающих доз в течение введения, составляющего по меньшей мере две недели, или по меньшей мере один месяц, или по меньшей мере два месяца, или по меньшей мере три месяца, или по меньшей мере четыре месяца, или по меньшей мере пять месяцев, или по меньшей мере шесть месяцев. Первоначальная примирующая доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, а одна или более чем одна последующая поддерживающая доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,05 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4, мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг. В другом воплощении способа фармацевтическую композицию вводят субъекту внутрикожно, подкожно, внутривенно, внутриартериально, интраабдоминально, внутрибрюшинно, внутриоболочечно или внутримышечно. В другом воплощении способа фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде одной или более чем одной терапевтически эффективной болюсной дозы или путем инфузии от 5 минут до 96 часов, что обеспечивает переносимость и максимальную безопасность и эффективность. В другом воплощении способа фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде одной или более чем одной терапевтически эффективной болюсной дозы или путем инфузии от 5 минут до 96 часов, где доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по

меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4, мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг. В другом воплощении способа фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде одной или более чем одной терапевтически эффективной болюсной дозы или путем инфузии от 5 минут до 96 часов, при этом введение субъекту приводит к концентрации в плазме Cmax нерасщепленной AAC от по меньшей мере приблизительно 0,1 нг/мл до по меньшей мере приблизительно 2 мкг/мл или более у субъекта, которая поддерживается в течение по меньшей мере приблизительно 3 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток или по меньшей мере приблизительно 21 суток. Терапевтически эффективная доза составляет по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг. В одном воплощении первоначальная доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно

0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, а последующая доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4, мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг. В указанных выше воплощениях введение субъекту обеспечивает концентрацию рекомбинантного полипептида в плазме от по меньшей мере приблизительно 0,1 нг/мл до по меньшей мере приблизительно 2 нг/мл или более у субъекта в течение по меньшей мере приблизительно 3 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток или по меньшей мере приблизительно 21 суток. В вышеупомянутых воплощениях субъект может представлять собой мышь, крысу, обезьяну и человека.

[00253] В частности, фармацевтические композиции можно применять для лечения эпителиального рака, предпочтительно, аденокарцином, или минимального остаточного заболевания, более предпочтительно, солидной опухоли на ранней стадии, солидной опухоли на поздней стадии или метастатической солидной опухоли. Кроме того, фармацевтические композиции, предложенные в данном изобретении, могут найти применение в лечении сарком. Кроме того, фармацевтические композиции, содержащие рекомбинантный полипептид, предложенные в данном изобретении, можно применять в лечении лимфом и лейкозов, включая первичные гемобластозы, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, В-клеточные нарушения, такие как В-клеточная лимфома, лимфома Ходжкина, неходжкинская

лимфома, диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома, лимфома из мантийных клеток, бластома, В-клеточный хронический лимфолейкоз (B-CLL) и/или связанные с В-клетками аутоиммунные заболевания, такие как миастения гравис, Базедова болезнь, тиреоидит Хашимото или синдром Гудпасчера. Кроме того, фармацевтические композиции, содержащие рекомбинантный полипептид, предложенные в данном изобретении, можно применять в лечении рака, вызывающего асцит, включая рак мочеполовых путей, рак яичника, рак яичника с злокачественным асцитом, перитонеальный канцероматоз, серозную карциному матки, рак эндометрия, рак шейки матки, колоректальный рак, рак матки, мезотелиому брюшной полости, рак поджелудочной железы, рак толстой кишки, рак толстой кишки со злокачественным асцитом и рак желудка.

[00254] В одном аспекте изобретения предложен способ достижения благоприятного эффекта при раке или опухоли, опосредуемый введением фармацевтических композиций, содержащих рекомбинантный полипептид или композиции ААС. В одном воплощении способа изобретения предложено применение фармацевтической композиции в способе лечения рака или опухоли у субъекта, которому это необходимо, путем введения терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, в которой одна связывающая группировка композиции происходит из родительского антитела, которое связывается с маркерным антигеном клетки-мишени, выбранным из группы, состоящей из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, ангиопоэтина 2, B7-H3, B7-H6, антигена созревания В-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 С-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом С-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного

канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1). В одном воплощении способа введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции приводит к устранению или ослаблению первичного ракового или опухолевого заболевания, так что у субъекта наблюдается улучшение, несмотря на то, что субъект все еще может страдать первичным заболеванием.

[00255] В другом воплощении изобретения предложено применение фармацевтической композиции, содержащей AAC, в способе лечения рака или опухоли у субъекта путем введения терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, где одна связывающая группировка композиции происходит из родительского антитела, направленного против эффекторной клетки, выбранной из группы, состоящей из антител

из Таблицы 4, а вторая связывающая группировка происходит из родительского антитела, которое связывается с антигеном клетки-мишени, выбранным из группы, состоящей из антител Таблицы 5, где AAC дополнительно содержит один или более чем один RS из Таблицы 1 или Таблицы 2 и один или более чем один XTEN из Таблицы 8 или Таблицы 10 и имеет конфигурацию, описанную в данном документе. В одном воплощении способа дозы фармацевтической композиции вводят в виде болюса. В другом воплощении способа дозы фармацевтической композиции вводят посредством внутривенной инфузии. В другом воплощении способа дозы фармацевтической композиции вводят посредством внутрибрюшинной инфузии. В другом воплощении способа дозы фармацевтической композиции вводят посредством внутриартериальной инфузии. В другом воплощении способа дозы фармацевтической композиции вводят посредством подкожной инъекции. В другом воплощении способа дозы фармацевтической композиции вводят посредством внутримышечной инъекции. В воплощениях, упомянутых в данном параграфе, субъект выбран из группы, состоящей из мыши, крысы, собаки, обезьяны и человека.

[00256] В другом аспекте изобретение относится к способу лечения рака или опухоли у субъекта согласно схеме лечения. В одном воплощении изобретения предложен способ лечения рака или опухоли у субъекта, включающий введение субъекту с заболеванием двух или более последовательных доз терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид или композицию AAC, описанные в данном документе, согласно схеме лечения. В одном воплощении изобретения предложен способ лечения рака или опухоли у субъекта, включающий введение субъекту с заболеванием двух или более последовательных доз терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции согласно схеме лечения, где введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции субъекту позволяет достичь благоприятный терапевтический эффект. В другом воплощении изобретения предложен способ лечения рака или опухоли у субъекта, включающий введение субъекту с заболеванием двух или более последовательных доз терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, описанной в данном документе, согласно схеме лечения, где схема лечения приводит к улучшению клинических параметров, связанных с заболеванием субъекта или показателей эффективности. В приведенном выше описании клинический параметр, связанный с заболеванием у субъекта, или показатель эффективности выбраны из группы, состоящей

из уменьшения опухоли в виде полного, частичного или неполного ответа; времени до прогрессирования, времени до констатации отсутствия эффекта лечения, реакции биомаркера; выживаемости без прогрессирования; выживаемости без заболевания; времени до рецидивирования; времени до метастазирования; времени общей выживаемости; улучшения качества жизни и улучшения симптомов или любой их комбинации.

[00257] В другом аспекте изобретение относится к способу применения, в котором схема лечения является частью определенного цикла лечения. В одном воплощении способа определенный цикл лечения в схеме лечения включает введение фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид или ААС, изложенные в данном документе, два раза в неделю, каждую неделю, каждые 10 суток, каждые две недели, каждые три недели или каждый месяц в каждом цикле лечения. В другом воплощении способа схема лечения применяется в лечении заболевания, где заболевание выбрано из группы, состоящей из карцином, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака предстательной железы, рака головы и шеи, любой формы рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, эпителиальных злокачественных новообразований брюшной полости со злокачественным асцитом, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака пищевода, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, аденокарциномы, сарком любого происхождения, первичных гемобластозов, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастении гравис, Базедовой болезни, тиреоидита Хашимото или синдрома Гудпасчера.

[00258] В другом аспекте изобретение относится к улучшенным способам индуцирования гибели клетки-мишени, такой как раковая клетка, с использованием описанных здесь

композиций рекомбинантного полипептида или ААС, в которых способ приводит к гибели или индуцирует апоптоз в клетке-мишени или ткани, но с пониженной токсичностью и меньшими побочными эффектами. Конкретным преимуществом способов по изобретению является то, что улучшенные свойства композиций позволяют снизить дозу фармацевтических композиций или применять в способах лечения меньшую дозу, более редкую частоту введения и улучшенную схему введения, благодаря направленной доставке в ткани и клетки и улучшенным фармакокинетическим свойствам, в результате получая улучшенный терапевтический индекс, т.е. улучшенную эффективность и пониженную токсичность. Следовательно, рассматриваемые композиции могут обладать повышенной эффективностью и безопасностью по сравнению с соответствующими связывающими группировками, не связанными с рекомбинантными полипептидами или ААС из-за способности присоединенных объемных группировок снижать неспецифическое связывание со здоровыми тканями и предотвращать утечку из сосудистой системы в здоровые ткани, при этом обеспечивая улучшенное проникновение и связывание с раковой или опухолевой тканью при расщеплении RS и высвобождении связывающих группировок; следствием этого является различная компартментализация пролекарственной формы и высвобождаемых связывающих группировок при расщеплении композиции. В одном воплощении изобретения предложен способ индуцирования гибели клетки-мишени, включающий приведение в контакт клетки-мишени и эффекторной клетки с описанной в данном документе ААС, где следствием контакта является эффект, выбранный из группы, состоящей из потери целостности мембраны, пикноз, кариорексис, индуцирование внутреннего пути апоптоза, индуцирование внешнего пути апоптоза, апоптоз, клеточный лизис и клеточная гибель клетки-мишени. Эффект можно определять в анализе *in vitro* с применением клеток, включающем смешанную популяцию клеток-мишеней и эффекторных клеток и эффективное количество рекомбинантного полипептида, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени и эффекторной клетки.

[00259] В других воплощениях изобретения предложены способы индуцирования гибели клетки-мишени у субъекта, имеющего рак, включающий популяцию клеток-мишеней. В одном воплощении способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид или ААС. В другом воплощении способ включает введение фармацевтической композиции в

виде одной или более чем одной последовательно вводимых терапевтически эффективных доз. В другом воплощении способ включает определение количества фармацевтической композиции, необходимого для достижения терапевтического эффекта у субъекта, имеющего рак, и введение субъекту этого количества в виде двух или более последовательных доз. В вышеупомянутых способах рак выбран из группы, состоящей из карциномы, лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, ER/PR+ рака молочной железы, Her2+ рака молочной железы, трижды негативного рака молочной железы, рака толстой кишки, рака толстой кишки со злокачественным асцитом, слизеобразующих опухолей, рака предстательной железы, рака головы и шеи, рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, опухоли Вильмса, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, рака пищевода, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, арренобластомы, аденокарциномы, саркомы и В-клеточного хронического лимфолейкоза. В другом воплощении способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, где способ приводит к улучшению клинического параметра или конечной точки. Примерами клинических параметров или конечных точек может быть общая выживаемость, симптомы, безрецидивная выживаемость, частота объективного ответа, полный ответ, длительность ответа, выживаемость без прогрессирования, время до прогрессирования, время до констатации отсутствия эффекта лечения, измерение опухоли, размер опухоли, частота ответа опухоли, время до метастазирования и концентрация биомаркеров. В другом воплощении способ включает введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции субъекту, при этом способ приводит к уменьшению у субъекта частоты, продолжительности или тяжести побочных эффектов, связанных с введением, по сравнению с введением сопоставимому субъекту композиции, содержащей FBM и SBM AAC, в сопоставимой дозе в ммоль/кг, где побочные эффекты выбраны из

группы, состоящей из повышенных уровней IL-2 в плазме, повышенных уровней TNF-альфа в плазме, повышенных уровней IFN-гамма в плазме, сепсиса, фебрильной нейтропении, нейротоксичности, судорог, энцефалопатии, синдрома высвобождения цитокинов, нарушения речи, нарушения равновесия, лихорадки, головной боли, спутанности сознания, гипотензии, нейтропении, тошноты, нарушения сознания, дезориентации и повышения ферментов печени.

[00260] Способы по изобретению могут включать введение последовательных доз терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции в течение периода времени, достаточного для достижения и/или поддержания желаемого параметра или клинического эффекта, и такие последовательные дозы терапевтически эффективного количества устанавливают терапевтически эффективную схему введения фармацевтической композиции, т.е. схему последовательного введения доз, где дозы дают в терапевтически эффективном количестве чтобы привести к устойчивому положительному влиянию на любой клинический признак или симптом, аспект, измеренный параметр или характеристику течения или состояния ракового заболевания, включая рак и опухоли, описанные в данном документе, но не ограничиваясь ими.

[00261] Для способов по изобретению предпочтительны рекомбинантные полипептиды композиций ААС пролонгированного действия, для большего удобства пациентов, увеличения интервала между дозами и уменьшения количества лекарственного средства, необходимого для достижения устойчивого эффекта. В одном воплощении способ лечения включает введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид или ААС субъекту, которому это необходимо, что приводит к выигрышу во времени, проводимом в терапевтическом окне, установленном для компонентов связывающей группировки фармацевтической композиции по сравнению с соответствующими компонентами связывающей группировки, не связанными со слитым белком и вводимыми субъекту в сопоставимой молярной дозе. В некоторых случаях выигрыш во времени, проводимом в терапевтическом окне, составляет по меньшей мере приблизительно в три раза или по меньшей мере приблизительно в четыре раза, или по меньшей мере приблизительно в пять раз, или по меньшей мере приблизительно в шесть раз, или по меньшей мере приблизительно в восемь раз, или по меньшей мере приблизительно в 10 раз, или по меньшей мере приблизительно в 20 раз, или по меньшей мере приблизительно в 40 раз, или по меньшей

мере приблизительно в 50 раз, или по меньшей мере приблизительно в 100 раз больше по сравнению с соответствующими компонентами связывающей группировки, которые не связаны с рекомбинантным белком или ААС и вводятся субъекту в сопоставимой молярной дозе. Способы дополнительно предусматривают последовательное введение субъекту, которому это необходимо, множества доз фармацевтической композиции согласно терапевтически эффективной схеме введения, что приводит к выигрышу во времени между последовательными пиками Cmax и/или Cmin композиции в крови по сравнению с соответствующими компонентами связывающей группировки, не связанными со слитым белком. В вышеупомянутом воплощении выигрыш во времени между последовательными пиками Cmax и/или Cmin может составлять по меньшей мере приблизительно в три раза или по меньшей мере приблизительно в четыре раза, или по меньшей мере приблизительно в пять раз, или по меньшей мере приблизительно в шесть раз, или по меньшей мере приблизительно в восемь раз, или по меньшей мере приблизительно в 10 раз, или по меньшей мере приблизительно в 20 раз, или по меньшей мере приблизительно в 40 раз, или по меньшей мере приблизительно в 50 раз, или по меньшей мере приблизительно в 100 раз больше по сравнению с соответствующими компонентами связывающей группировки, которые не связаны со слитым белком и вводятся с использованием сопоставимой схемы введения молярных доз, разработанной для нацеливающих компонентов. В воплощениях, упомянутых выше в данном параграфе, введение фармацевтической композиции может приводить к улучшению по меньшей мере одного параметра, о котором известно, что он может применяться для оценки рассматриваемого рака или опухоли, с использованием более низкой однократной дозы рекомбинантного полипептида или ААС в молях по сравнению с соответствующими компонентами связывающей группировки, не связанными с рекомбинантным полипептидом или ААС и вводимым субъекту в сопоставимой молярной дозе или согласно сопоставимой схеме введения.

[00262] В другом аспекте изобретения предложены способы изготовления ААС. В одном воплощении способ включает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновокислотную конструкцию, которая кодирует активируемый рекомбинантный полипептид, в условиях, которые приводят к экспрессии активируемого рекомбинантного полипептида, где активируемый рекомбинантный полипептид содержит RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, где: i) каждый из RS1 и RS2 является субстратом для

расщепления протеазой млекопитающего и каждый содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88% или по меньшей мере на 94% или на 100% последовательности, выбранной из последовательностей Таблицы 1; ii) FBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3; iii) SBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH происходящие из моноклонального антитела, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени, выбранным из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, ангиопоэтина 2, B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP),

металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1); iv) каждый из XTEN1 и XTEN2 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере приблизительно на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 8; v) рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM и получение композиции активируемого полипептида. В вышеупомянутом способе активируемый рекомбинантный полипептид активируется при расщеплении RS1 и RS2 одной или более чем одной протеазой, способными расщеплять RS1 и RS2, в результате чего FBM и SBM высвобождаются из композиции, при этом FBM и SBM остаются слитыми, а XTEN1 и XTEN2 активируемого рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии мешают специфическому связыванию FBM с CD3 и SBM с маркером клетки-мишени, так что константа диссоциации (K_d) FBM активируемого рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии по отношению к CD3 или SBM по отношению к маркеру клетки-мишени по меньшей мере в 100 раз выше по сравнению с FBM или SBM, высвобождаемым из активируемого рекомбинантного полипептида при расщеплении RS1 и RS2 при определении в анализах *in vitro*, включающих целевой клеточный маркер, при сопоставимых условиях, например, в эквивалентных молярных концентрациях.

VIII. Последовательности нуклеиновых кислот

[00263] В другом аспекте данное изобретение относится к выделенным полинуклеотидным последовательностям, кодирующим рекомбинантный полипептид или композиции ААС и последовательности, комплементарные молекулам полинуклеотидов, кодирующим рекомбинантный полипептид или композиции ААС.

[00264] В некоторых воплощениях изобретения предложены полинуклеотиды, кодирующие рекомбинантный полипептид или композиции ААС согласно воплощениям, описанным в данном документе, или комплемент полинуклеотидной последовательности. В одном воплощении изобретения предложена выделенная полинуклеотидная последовательность, кодирующая рекомбинантный полипептид, состоящий из аминокислотной последовательности, идентичной по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% аминокислотной последовательности, приведенной в Таблице 11, Таблицах 14-16 или Таблице 18, или комплемент полинуклеотидной последовательности. В одном воплощении изобретения предложена выделенная полинуклеотидная последовательность, кодирующая композицию ААС, где полинуклеотидная последовательность идентична по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% полинуклеотидной последовательности, приведенной в Таблице 11, Таблице 16 или Таблице 18.

[00265] В другом аспекте изобретение относится к способам получения полинуклеотидных последовательностей, кодирующих рекомбинантную полипептидную композицию или ААС воплощений, или последовательностей, комплементарных полинуклеотидным последовательностям, включая их гомологичные варианты, а также способы экспрессии белков, экспрессируемых полинуклеотидными последовательностями. В целом, способы включают получение полинуклеотидной последовательности, кодирующей белковый рекомбинантный полипептид или композицию ААС и включение кодирующего гена в экспрессионный вектор, подходящий клетке-хозяину. Способ получения кодируемого рекомбинантного полипептида или ААС включает трансформацию подходящей клетки-хозяина экспрессионным вектором и культивирование клетки-хозяина в условиях, обеспечивающих или позволяющих рекомбинантному полипептиду или ААС экспрессироваться в трансформированной клетке-хозяине, с образованием рекомбинантного полипептида или ААС, который выделяют способами, описанными в данном документе, или стандартными способами

очистки белков, известными в области техники. Для получения полинуклеотидов и экспрессионных векторов по данному изобретению применяют стандартные рекомбинантные методы молекулярной биологии.

[00266] В соответствии с изобретением, последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие рекомбинантные полипептидные композиции (или комплементарные им), применяют для создания молекул рекомбинантной ДНК, которые направляют экспрессию в соответствующих клетках-хозяевах. Для осуществления данного изобретения подходят несколько стратегий клонирования, многие из которых применяют для создания конструкций, содержащих ген, кодирующий композицию по данному изобретению или ее комплемент. В одном воплощении стратегия клонирования применяется для создания гена, кодирующего рекомбинантную полипептидную конструкцию, которая содержит нуклеотиды, кодирующие рекомбинантный полипептид, который применяется для трансформации клетки-хозяина для экспрессии композиции. В воплощениях, описанных выше в данном параграфе, гены могут содержать нуклеотиды, кодирующие связывающие группировки, высвобождающие сегменты и объемные группировки в описанных конфигурациях.

[00267] В одном подходе вначале получают конструкцию, содержащую последовательность ДНК, соответствующую рекомбинантной полипептидной конструкции. Примеры способов получения таких конструкций описаны в разделе Примеры. Затем конструкцию применяют для создания экспрессионного вектора, подходящего для трансформации клетки-хозяина, такой как прокариотическая клетка-хозяин для экспрессии и выделения рекомбинантной полипептидной конструкции. При желании клеткой-хозяином является *E. coli*. Приведенные в качестве примеров способы создания экспрессионных векторов, трансформация клеток-хозяев и экспрессия и выделение XTEN описаны в Примерах.

[00268] Ген, кодирующий рекомбинантную полипептидную конструкцию, может быть создан в одну или несколько стадий, либо полностью синтетически, либо путем комбинации синтеза с ферментативными процессами, такими как клонирование, опосредованное рестрикционными ферментами, ПЦР (полимеразная цепная реакция) с перекрывающимися праймерами, включая способы, более подробно описанные в разделе Примеры. Описанные в данном документе способы можно применять, например, для лигирования последовательностей полинуклеотидов, кодирующих различные компоненты

(например, связывающие домены, линкеры, высвобождающие сегменты и XTEN) генов желаемой длины и последовательности. Гены, кодирующие рекомбинантные полипептидные композиции, собирают из олигонуклеотидов с применением стандартных методов синтеза генов. При конструировании гена можно использовать алгоритмы, позволяющие оптимизировать кодоны и состав аминокислот в соответствии с их использованием клеткой-хозяином *E. coli*, применяемой для продуцирования рекомбинантного полипептида. В одном способе изобретения создают библиотеку полинуклеотидов, кодирующих компоненты конструкций, а затем собирают, как описано выше. Затем полученные гены собирают и используют для трансформации клетки-хозяина, а также для получения и выделения рекомбинантных полипептидных композиций для оценки их свойств, как описано в данном документе.

[00269] Полученные полинуклеотиды, кодирующие рекомбинантные полипептидные последовательности, затем могут быть индивидуально клонированы в вектор экспрессии. Последовательность нуклеиновой кислоты встраивают в вектор различными способами. Как правило, ДНК встраивают в соответствующий сайт(ы) расщепления эндонуклеазой с использованием методик, известных в данной области техники. Компоненты вектора, как правило, включают одно или несколько из: сигнальной последовательности, ориджина репликации, одного или нескольких маркерных генов, энхансерного элемента, промотора и последовательности терминации транскрипции, но не ограничиваются перечисленным. В конструировании подходящих векторов, содержащих один или несколько из этих компонентов, используют стандартные методы лигирования, которые известны специалисту в данной области. Такие методы хорошо известны в данной области техники и подробно описаны в научной и патентной литературе. Различные векторы общедоступны. Вектор может, например, быть в форме плазмиды, космиды, вирусной частицы или фага, к которым могут применяться методы рекомбинирования ДНК, и выбор вектора часто будет зависеть от клетки-хозяина, в которую он должен быть помещен. Таким образом, вектор может быть автономно реплицирующимся вектором, то есть вектором, который существует как внехромосомный объект, репликация которого не зависит от репликации хромосомы, например, плазмидой. В альтернативном варианте вектор может представлять собой вектор, который при внедрении в клетку-хозяина интегрируется в геном клетки-хозяина и реплицируется вместе с хромосомой(ами), в которую(ые) он был интегрирован.

[00270] Изобретение предусматривает применение плазмидных экспрессионных векторов, содержащих реплицируемые и контрольные последовательности, которые совместимы с клеткой-хозяином и распознаются ею и функционально связаны с геном, кодирующим полипептид, для контролируемой экспрессии полипептида. Вектор обычно несет сайт репликации, а также последовательности, которые кодируют белки, которые способны обеспечить фенотипический отбор в трансформированных клетках. Такие последовательности векторов для различных бактерий, дрожжей и вирусов хорошо известны. Подходящие векторы экспрессии, которые можно использовать, включают, например, сегменты последовательностей хромосомной, нехромосомной и синтетической ДНК. «Вектор экспрессии» относится к ДНК-конструкции, содержащей последовательность ДНК, которая функционально связана с подходящей контрольной последовательностью, способной влиять на экспрессию ДНК, кодирующей полипептид, в подходящем хозяине. Необходимо, чтобы векторы были реплицируемыми и жизнеспособными в выбранной клетке-хозяине. По желанию можно использовать векторы с низким или высоким числом копий.

[00271] Подходящие векторы включают производные SV40 и pcDNA и известные бактериальные плазмиды, такие как col El, EI, pCRl, pBR322, pMal-C2, pET, pGEX, как описано Smith et al., Gene 57: 31-40 (1988), pMB9 и его производные, плазмиды, такие как RP4, ДНК фагов, таких как многочисленные производные фага I, такие как NM98 9, а также другие фаговые ДНК, такие как M13 и одноцепочечная ДНК нитевидных фагов; плазмиды дрожжей, такие как 2-микронная плазмида или производные 2 м-плазмиды, а также центромерные и интегративные челночные векторы дрожжей; векторы, используемые в эукариотических клетках, такие как векторы, используемые в клетках насекомых или млекопитающих; векторы, полученные из комбинаций плазмидной и фаговой ДНК, такие как плазмиды, которые были модифицированы для использования фаговой ДНК или последовательностей контроля экспрессии, и тому подобное, без ограничения. Системы экспрессии в дрожжах, которые также могут применяться в данном изобретении, включают неслитый вектор pYES2 (Invitrogen), слитые pYESHisA, B, C (Invitrogen), векторы pRS и тому подобные, без ограничения. Контрольные последовательности вектора включают промотор для осуществления транскрипции, необязательную последовательность оператора для контроля такой транскрипции, последовательность, кодирующую подходящие сайты связывания мРНК рибосомы, и

последовательности, которые контролируют терминацию транскрипции и трансляции. Промотор может представлять собой любую последовательность ДНК, которая проявляет транскрипционную активность в выбранной клетке-хозяине и может быть получена из генов, кодирующих белки, гомологичные или гетерологичные для клетки-хозяина. Промоторы, подходящие для использования в векторах экспрессии с прокариотическими хозяевами, включают системы промоторов b-лактамазы и лактозы [Chang et al., Nature, 275:615 (1978); Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979)], щелочной фосфатазы, системы триптофанового промотора (trp) [Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980); EP 36,776] и гибридные промоторы, такие как промотор tac [deBoer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)], все из которых функционально связаны с ДНК, кодирующей полипептиды CFXTEN. Промоторы для применения в бактериальных системах также могут содержать последовательность Шайна-Дальгарно (S.D.), функционально связанную с ДНК, кодирующей рекомбинантные полипептиды.

[00272]

IX. Способы получения рекомбинантного полипептида и композиций ААС

[00273] В другом аспекте изобретение относится к способам получения рекомбинантных полипептидных композиций при высоких уровнях ферментативной экспрессии функционального белка с использованием клетки-хозяина *E. coli*, а также к предоставлению векторов экспрессии, кодирующих конструкции, которые можно применять в способах получения композиций цитотоксически активной полипептидной конструкции при высоком уровне экспрессии.

[00274] В одном воплощении способ включает стадии 1) получения полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный полипептид или ААС согласно любому из описанных в данном документе воплощений, 2) клонирования полинуклеотида в вектор экспрессии, который может представлять собой плазмиду или другой вектор под контролем соответствующих последовательностей транскрипции и трансляции для экспрессии белка в биологической системе на высоком уровне, 3) трансформации подходящей клетки-хозяина *E. coli* с помощью вектора экспрессии и 4) культивирования клетки-хозяина в стандартных питательных средах в условиях, подходящих для экспрессии рекомбинантной полипептидной композиции. При желании клеткой-хозяином является *E. coli* BL21 Gold. Результатом способа является экспрессия рекомбинантного полипептида

или ААС с титрами ферментации продукта экспрессии в клетке-хозяине по меньшей мере 0,1 г/л, или по меньшей мере 0,2 г/л, или по меньшей мере 0,3 г/л, или по меньшей мере 0,5 г/л, или по меньшей мере 0,6 г/л, или по меньшей мере 0,7 г/л, или по меньшей мере 0,8 г/л, или по меньшей мере 0,9 г/л, или по меньшей мере 1 г/л, где по меньшей мере 70%, или по меньшей мере 80%, или по меньшей мере 90%, или по меньшей мере 95%, или по меньшей мере 97%, или по меньшей мере 99% экспрессируемого белка свернуто надлежащим образом. В данном описании термин «свернут надлежащим образом» означает, что компонент связывающей группировки композиции обладает способностью специфически связываться со своим лигандом-мишенью. В другом воплощении изобретения предложен способ получения рекомбинантного полипептида или композиции ААС, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей вектор, кодирующий полипептид, содержащий рекомбинантный полипептид или композицию ААС, в условиях, подходящих для экспрессии полипептидного продукта в концентрации, превышающей приблизительно 10 мг указанного полипептида/г сухой массы клетки-хозяина (мг/г) или по меньшей мере приблизительно 250 мг/г или приблизительно 300 мг/г, или приблизительно 350 мг/г, или приблизительно 400 мг/г, или приблизительно 450 мг/г, или приблизительно 500 мг/г, до достижения оптической плотности по меньшей мере 130 при длине волны 600 нм, причем связывающие группировки экспрессируемого белка свернуты надлежащим образом. В другом воплощении изобретения предложен способ получения рекомбинантного полипептида или композиции ААС, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей вектор, кодирующий полипептид, содержащий рекомбинантный полипептид или композицию ААС, в условиях, подходящих для экспрессии полипептидного продукта в концентрации, превышающей приблизительно 10 мг указанного полипептида/г сухой массы клетки-хозяина (мг/г) или по меньшей мере приблизительно 250 мг/г или приблизительно 300 мг/г, или приблизительно 350 мг/г, или приблизительно 400 мг/г, или приблизительно 450 мг/г, или приблизительно 500 мг/г, до достижения оптической плотности по меньшей мере 130 при длине волны 600 нм, причем экспрессируемый полипептидный продукт является растворимым.

[00275] Ниже приведены примеры композиций и оценка композиций по изобретению. Следует понимать, что на практике возможны и другие варианты воплощений, в соответствии с приведенным выше описанием.

ОПИСАНИЕ ПРИМЕРОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00276] Пример 1. Создание конструкции ProTIA с анти-EpCAM-анти-CD3-XTEN с высвобождающим сегментом и XTEN

[00277] Ген, кодирующий тандемный scFv анти-EpCAM/анти-CD3, с расположенной за ним одной из последовательностей мультиспецифического высвобождающего сегмента (BSRS-1, аминокислотная последовательность LSGRSDNHSPLGLAGS) синтезировали в Genescript, внедрив сайты рестрикции для NdeI и BsaI, совместимые с сайтами NdeI и BsaI в векторе pBR322-XTEN864. Фрагменты гена после разрезания рестриктазой, содержащие тандемный scFv анти-EpCAM/анти-CD3 и BSRS-1 лигировали в вектор pBR322-XTEN864 с применением ДНК-лигазы T4 и трансформировали клетки BL21 Gold (New England Biolabs). Осуществляли скрининг трансформантов, выделяя ДНК с помощью набора miniprep и подтверждали, что конструкция соответствует желаемой, путем секвенирования ДНК. Полученный вектор кодирует молекулу ProTIA со следующими компонентами (в направлении от N- к C-концу): биспецифический тандемный scFv анти-EpCAM/анти-CD3 с BSRS-1 в качестве высвобождающего сегмента, слитый с геном XTEN_864 под контролем промотора PhoA и лидерным пептидом STII, обеспечивающим секрецию. Полученная конструкция представляет собой AC1278, последовательность ДНК и кодируемая аминокислотная последовательность приведены в Таблице 11.

[00278] Другой анти-EpCAM анти-CD3-XTEN с высвобождающим сегментом, обозначенный AC1476, последовательность ДНК и кодируемая аминокислотная последовательность которого приведены в Таблице 11, сконструировали аналогичным образом, получив основной вектор pYS0044-XTEN864-H6. Подчеркнутая последовательность обозначает сигнальный пептид, который отщепляется при секреции и отсутствует в готовом зрелом белке.

[00279] Дополнительные варианты ProTIA сконструировали с применением тех же процедур и их аминокислотные последовательности приведены в Таблице 14.

Таблица 11. Последовательности ДНК и аминокислотные последовательности анти-EpCAM-анти-CD3-XTEN с высвобождающим сегментом, обозначенные AC1278 и AC1476

Название конструкции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность*
AC1278	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATT GCTACAAACGCGTACGCTCATCACCACCATCATCACCATCACGAACTGGTT ATGACCCAAAGCCCGAGCAGCCTGACCGTTACCGCGGGCGAAAAGGTTACC ATGAGCTGCAAAAGCAGCCAAAGCCTGCTGAACAGCGGCAACCAAAAGAAC TACCTGACCTGGTACCAACAGAAGCCGGGTCAGCCGCCGAAACTGCTGATC TACTGGGCGAGCACCCGTGAGAGCGGCGTTCCGGACCGTTTTACCGGCAGC GGCAGCGGTACCGACTTTACCCTGACCATTAGCAGCGTGCAGGCGGAAGAT CTGGCGGTGTACTATTGCCAAAACGACTACAGCTACCCGCTGACCTTTGGT GCGGGCACCAAACTGGAGATCAAGGGTGGCGGTGGCAGCGGCGGTGGTGGC AGCGGCGGCGGTGGCAGCGAGGTTCAGCTGCTGGAACAGAGCGGCGCGGAG CTGGTGCGTCCGGGTACCAGCGTTAAGATCAGCTGCAAGGCGAGCGGTTAT GCGTTCACCAACTACTGGCTGGGTTGGGTGAAGCAACGTCCGGGTCACGGT CTGGAGTGGATCGGCGACATTTTCCCGGGCAGCGGTAACATCCACTACAAC GAGAAATTCAAGGGTAAAGCGACCCTGACCGCGGATAAAAGCAGCAGCACC GCGTATATGCAGCTGAGCAGCCTGACCTTCGAAGATAGCGCGGTTTACTTC TGCGCGCGTCTGCGTAACTGGGATGAACCGATGGATTACTGGGGTCAGGGC ACCACCGTGACCGTTAGCAGCGGTGGTGGCGGCAGCGATGTTCAGCTGGTG CAAAGCGGTGCGGAAGTGAAAAAGCCGGGTGCGAGCGTGAAAGTTAGCTGC AAAGCGAGCGGCTATACCTTCACCCGTTACACCATGCACTGGGTTCGTCAG GCGCCGGGTCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCAACCCGAGCCGTGGC TATACCAACTACGCGGATAGCGTGAAAGGTCGTTTCACCATTACCACCGAC AAAAGCACCAGCACCGCGTACATGGAACTGAGCAGCCTGCGTAGCGAGGAT ACCGCGACCTACTATTGCGCGCGTTACTATGATGACCACTACTGCCTGGAC TATTGGGGCCAAGGTACCACCGTTACCGTGAGCAGCGGTGAAGGCACCAGC ACCGGCAGCGGTGGTAGCGGTGGTAGCGGCGGTGCGGATGACATCGTTCTG ACCCAAAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAGCGTGCGACCCTG AGCTGCCGTGCGAGCCAGAGCGTTAGCTACATGAACTGGTACCAGCAAAAG CCGGGCAAAGCGCCGAAGCGTTGGATTTATGATACCAGCAAGGTTGCGAGC GGTGTTCCGGCGCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGCACCGATTATAGCCTG ACCATTAACAGCCTGGAGGCGGAAGATGCGGCGACCTACTACTGCCAACAA TGGAGCAGCAATCCGCTGACCTTCGGTGGTGGTACCAAAGTTGAAATTAAG GGCACCGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCCTGTCAGGTCGTTCTGATAAC CATTCCCCACTGGGTCTGGCTGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCA ACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTCCT GGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGT AGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCC GCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCC GAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGC TCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGT TCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCC ACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCC CCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCG GGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAGGGC AGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACT AGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGC GAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCG GGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAA CCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCC GCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCT GAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACC TCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGC TCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCG ACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCA CCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACG GAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGT	MKKNIAFLLASMFVFSIATNA YAHHHHHHHHHELVMTQSPSSL TVTAGEKVTMSCKSSQSLLNS GNQKNYLTWYQQKPGQPPKLL IYWASTRESGVPDRFTGSGSG TDFTLTISSVQAEDLAVYYCQ NDYSYPLTFGAGTKLEIKGGG GSGGGGSGGGGSEVQLLEQSG AELVRPGTSVKISCKASGYAF TNYWLGWVKQRPGHGLEWIGD IFPGSGNIHYNEKFKGKATLT ADKSSSTAYMQLSSLTFEDSA VYFCARLRNWDEPMDYWGQGT TVTVSSGGGGSDVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFTR YTMHWVRQAPGQGLEWIGYIN PSRGYTNYADSVKGRFTITTD KSTSTAYMELSSLRSEDTATY YCARYYDDHYCLDYWGQGTTV TVSSGEGTSTGSGGSGGSGGA DDIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSYMNWYQQKPGK APKRWIYDTSKVASGVPARFS GSGSGTDYSLTINSLEAEDAA TYYCQQWSSNPLTFGGGTKVE IKGTAEAASASGLSGRSDNHS PLGLAGSPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPG

Название конструкции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность*
	TCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACG AGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCG ACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCA GGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCA ACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCC GGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCT GAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAA GGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGC AGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGC CCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAG GAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACT GAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAA AGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACT TCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCC GGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCT GGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGT AGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCG GGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCC GAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACC TCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGT ACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCA ACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGC CCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCG GCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCT GAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACC AGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCG GAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCG GGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAG CCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGT	TSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPG
AC1476	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATT GCTACAAACGCGTACGCTGATATTCAGATGACCCAATCGCCGTCGTCCCTG TCAGCTTCAGTCGGTGATCGTGTTACCATTACCTGTCGCTCAACGAAATCC CTGCTGCATTCAAACGGTATTACCTATCTGTACTGGTATCAGCAAAAACCG GGCAAAGCGCCGAAACTGCTGATCTACCAGATGTCGAATCTGGCCAGCGGT GTTCCGTCTCGTTTTAGCTCTAGTGGTTCTGGCACCGATTTCACCCTGACG ATTTCCTCACTGCAACCGGAAGACTTTGCAACGTATTACTGCGCTCAGAAC CTGGAAATCCCGCGTACCTTCGGTCAAGGCACGAAAGTCGAAATTAAAGGT GCAACGCCTCCGGAGACTGGTGCTGAAACTGAGTCCCCGGGCGAGACGACC GGTGGCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCCAAGTGCAACTGGTT CAGAGCGGTCCGGGTCTGGTCCAACCGGGTGGCAGTGTGCGTATTTCCTGC GCGGCCTCAGGTTACACCTTTACGAACTATGGCATGAATTGGGTGAAACAG GCCCCGGGTAAAGGCCTGGAATGGATGGGTTGGATCAACACCTACACGGGC GAATCTACCTATGCAGATAGTTTCAAAGGCCGCTTTACCTTCAGCCTGGAC ACGTCTGCTAGTGCAGCTTATCTGCAGATTAATAGCCTGCGTGCGGAAGAT ACGGCCGTTTATTACTGTGCGCGCTTTGCAATCAAAGGCGACTACTGGGGC CAAGGCACCCTGCTGACCGTGTCCTCCGGTGGTGGCGGCAGCGACATCCAA ATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGCGACCGTGTTACC ATCACCTGCCGTGCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAACTGGTATCAG CAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCTGCTGATCTACTATACCAGCCGTCTG GAGAGCGGCGTGCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTAC ACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTCGCGACCTACTATTGC CAGCAGGGTAACACCCTGCCGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGAG ATTAAAGGCGCCACGCCTCCGGAAACTGGTGCTGAGACGGAATCCCCTGGT GAAACCACTGGCGGTTCTGCCGAATCTGAACCGCCTGGTGAAGGCGAGGTG CAGCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAACCAGGCGGTAGCCTGCGT CTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGG GTTCGTCAAGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCTGATCAACCCG TACAAGGGTGTTAGCACCTATAACCAGAAGTTCAAAGACCGTTTTACCATT AGCGTGGATAAGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAATGAACAGCCTGCGT GCGGAGGACACCGCTGTGTACTATTGCGCGCGTAGCGGTTACTATGGCGAC AGCGACTGGTATTTTGATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAGC	MKKNIAFLLASMFVFSIATNA YADIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRSTKSLLHSNGITYLYW YQQKPGKAPKLLIYQMSNLAS GVPSRFSSSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCAQNLEIPRTF GQGTKVEIKGATPPETGAETE SPGETTGGSAESEPPGEGQVQ LVQSGPGLVQPGGSVRISCAA SGYTFTNYGMNWVKQAPGKGL EWMGWINTYTGESTYADSFKG RFTFSLDTSASAAYLQINSLR AEDTAVYYCARFAIKGDYWGQ GTLLTVSSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQDI RNYLNWYQQKPGKAPKLLIYY TSRLESGVPSRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQGN TLPWTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPP GEGEVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYSFTGYTMNWVRQ APGKGLEWVALINPYKGVSTY NQKFKDRFTISVDKSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCARSGYY GDSDWYFDVWGQGTLVTVSSG TAEAASASGLSGRSDNHSPLG LAGSPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGSEP

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность*
	TCCGGCACCGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCCTGTCAGGTCGTTCTGAT AACCATTCCCCACTGGGTCTGGCTGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGC CCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGT CCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCA GGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGT TCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACT TCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCC GGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCA GGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCG GCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCA GCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCG GCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAG GGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCA AGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGC CCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACT GAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGT TCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACC TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCA ACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCT GGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCT GCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGC GCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCC ACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAG GGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGT ACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCT CCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCA CCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCT GCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAG TCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACG TCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGC GAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCG GGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGT AGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACT GAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCC ACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCA GAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGC ACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACT TCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGT CCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCT GGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAA TCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACC TCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCA ACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAA GGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGC GCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGC GGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAG CCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGT TCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGT ACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCA TCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACG CCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACC GAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCACCATCAC	ATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSGSETPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGHHHHHH

* подчеркнутый пептид обозначает сигнальный пептид

[00280] Пример 2. Получение нерасщепленного и расщепленного His8-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864 из культуры *E. coli*

[00281] 1) Экспрессия и очистка His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864 из культуры *E. coli*

[00282] Слитый белок AC1278 (MKKNIAFLLASMFVFSIATNAYA-His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864) экспрессировали в запатентованном штамме *E. coli* AmE098. Культуру в объеме 10 л выращивали при температуре 37°C и снижали температуру до 26°C после истощения внесенной соли. Собранную кондиционированную среду центрифугировали для осаждения клеток. Собирали надосадочную жидкость и затем, чтобы уменьшить концентрацию примесей эндотоксина и белков клетки-хозяина осуществляли кислотное осаждение. С помощью 1M уксусной кислоты pH супернатанта постепенно снижали до pH 4,5 и оставляли для инкубации при комнатной температуре на 30 минут. Затем pH обратно повышали до pH 7,5 с помощью 2M NaOH и выдерживали в течение ночи при 4°C. На следующие сутки супернатант фильтровали с использованием фильтровальной капсулы 3M LifeAssure с размерами пор 0,20 мкм.

[00283] Чтобы обеспечить целостность N-конца с аффинной His-меткой, для захвата на первом этапе использовали аффинную хроматографию с иммобилизованными ионами металлов. Пять колонок RedisepRf 25G (Teledyne Isco) объемом 10 мл заполняли 10 мл смолы ToyoPearl-AF-Chelate 650M (TOSOH Biosciences). Колонки обрабатывали 0,5 M NaOH, тщательно промывали дистиллированной водой и затем загружали 0,1 M Ni_2SO_4 и уравновешивали 5 объемами колонки (CV) уравновешивающего буфера (20 мМ Трис, 250 мМ NaCl, pH 7,5). Поскольку температура помутнения Triton X-114 составляет 23°C, промывочный буфер Triton (20 мМ Tris, 100 мМ NaCl, 0,1% Triton X-114, pH 7,5) и промывочный буфер 2 (20 мМ Tris, 100 мМ NaCl, pH 7,5) готовили заранее, хранили при 4°C и держали на льду во время использования. После уравновешивания колонки супернатант загружали в колонку. После пропускания 3 CV уравновешивающего буфера колонку промывали 10 CV холодного промывочного буфера Triton для снижения уровня эндотоксина, а затем 10 CV холодного промывочного буфера 2 для удаления Triton X-114. Затем белок элюировали из колонки 3 CV элюирующего буфера (20 мМ Трис, 100 мМ NaCl, 150 мМ имидазол, pH 7,5) и собирали фракции в количестве 1 CV (10 мл). Для уменьшения окисления белка при каждом элюировании добавляли 5 мМ ЭДТА. Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях и окрашивали Кумасси. На основе результатов

электрофореза в геле элюированные фракции CV1 и CV2 сохраняли для дальнейшей обработки. (Фиг. 14A)

[00284] Хроматография гидрофобного взаимодействия (HIC) была выбрана в качестве стадии дальнейшей очистки. Две колонки RedisepRf 25G (Teledyne Isco) объемом 20 мл заполняли 20 мл смолы Toyopearl-Phenyl-650M (TOSOH Biosciences). Колонки обрабатывали 0,5 M NaOH, тщательно промывали дистиллированной водой и уравновешивали 5 CV буфера A (20 мМ Трис, 1 M $(NH_4)_2SO_4$, pH 7,5). Элюирующие буферы, содержащие 75% буфера A, 50% буфера A и 25% буфера A, готовили заранее, смешивая соответствующие объемы буфера A и буфера B (20 мМ Трис, pH 7,5). Фракции CV1 и 2, элюированные на предыдущей стадии с колонки IMAC, объединяли вместе и добавляли сульфат аммония до конечной концентрации 1 M перед тем как загрузить в предварительно уравновешенные колонки со смолой Phenyl. После загрузки и пропускания через колонку 3 CV буфера A проводили элюирование каждым из 75% буфера A, 50% буфера A, 25% буфера A и 0% буфера A в количестве 3 CV. Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях и окрашивали Кумасси. На основе результатов электрофореза в геле промывочные и элюированные 750 мМ $(NH_4)_2SO_4$ фракции CV1-2 (в рамке) объединяли для дальнейшей обработки (Фиг. 14B).

[00285] Чтобы обеспечить целостность C-конца с XTEN и дополнительно уменьшить концентрацию эндотоксина, в качестве стадии окончательной очистки выбрали анионообменную хроматографию. Колонку XK16 в хроматографе AKTApurifier заполняли 5 мл смолы Capto Q Impress (GE Healthcare), обрабатывали 0,5M NaOH, тщательно промывали дистиллированной водой, десорбировали 2 CV буфера B (20 мМ Tris, 500 мМ NaCl, pH 7,5) и уравновешивали 5 CV буфера A (20 мМ Tris pH 7,5). Пул элюированных с колонки HIC фракций разводили в 4 раза перед тем как загрузить в колонку. Затем колонку промывали 3 CV 30% буфера B и элюировали градиентом буфера B от 30% до 70% в количестве 15 CV. Элюированные фракции собирали в объеме ½ CV (2,5 мл). Загруженный материал, проточные и элюированные фракции затем анализировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях и окрашивали Кумасси для определения фракций, которые нужно объединить для составления композиции (Фиг. 14C).

[00286] 2) Получение и характеризация

[00287] Нужные элюированные фракции (обведены в рамку на Фиг. 14C) концентрировали и производили замену буфера на 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl, pH 7,5. Полученный продукт стерилизовали фильтрованием через фильтр с размерами пор 0,2 мкм. Определение качества продукта при выпуске партии включало анализ при помощи эксклюзионной хроматографии и электрофореза в полиакриламидном геле. Для анализа методом SEC 10 мкг составленного продукта инжектировали в колонку для аналитической SEC и подтверждали, что более 95% продукта представлено мономерами. (Фиг. 15A). Для проведения электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии SDS загружали 5 мкг составленного продукта в 4-12% Bis-Tris гель и окрашивали Кумасси синим. Чистота продукта составляла более 90% (Фиг. 15B).

[00288] 3) Активация и хранение фермента

[00289] Рекомбинантная MMP-9 мыши поставлялась компанией R&D Systems в виде зимогена и требовала активации ацетатом 4-аминофенилртути (APMA). APMA сначала растворяли в 0,1 M NaOH до конечной концентрации 10 мМ, после чего pH доводили до нейтрального при помощи 0,1N HCl. Дальнейшее разведение маточного раствора APMA до 2,5 мМ проводили в 50 мМ Трис, 150 мМ NaCl, 10 мМ $CaCl_2$ pH 7,5. Для активации pro-MMP инкубировали 1 мМ APMA и 100 мкг/мл pro-MMP-9 при 37°C в течение 3 часов. Активированный фермент с добавлением глицерина до конечной концентрации 50% затем мог храниться при -20°C в течение нескольких недель.

[00290] 4) Расщепление His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864 при помощи MMP-9

[00291] Для получения расщепленного aEpCAM-aCD3 ProTIA-A, 9,12 мг приготовленного His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864 (ProTIA-X) инкубировали в течение 2 часов при 37°C в реакционной смеси, содержащей 10 мМ $CaCl_2$ и активной рекомбинантной MMP-9 (R&D Systems) мыши в соотношении фермента к субстрату 1:2237. Для подтверждения специфического расщепления BSRS1 5 мкг нерасщепленного и расщепленного MMP-9 продукта разделяли на 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле в присутствии SDS с последующим окрашиванием Кумасси синим. Окрашивание Кумасси синим позволило визуализировать полноразмерный His8-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864 (ProTIA-X) до расщепления MMP-9 и расщепленный фрагмент His8-aEpCAM-aCD3 (ProTIA-A) после расщепления MMP-9 (Фиг. 16A).

[00292] 5) Очистка расщепленного His(8)-aEpCAM-aCD3 ProTIA-A после расщепления

MMP-9

[00293] После подтверждения расщепления BSRS1 при помощи MMP-9 использовали хроматографию с иммобилизованными ионами металлов для удаления MMP-9. Колонку (ThermoScientific) объемом 5 мл заполняли 2 мл смолы ToyoPearl-AF-Chelate 650M (TOSOH Biosciences). Колонку уравновешивали 5 CV уравновешивающего буфера (20 мМ Трис, 250 мМ NaCl, pH 7,5). Смесь для расщепления загружали в колонку. После загрузки и пропускания 1 CV уравновешивающего буфера колонку промывали 3 CV уравновешивающего буфера. Белок элюировали из колонки 3 CV элюирующего буфера (20 мМ Трис, 100 мМ NaCl, 150 мМ имидазол, pH 7,5) и собирали фракции в количестве 1 CV (2 мл). Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях и окрашивали Кумасси для определения элюированных фракций, содержащих ProTIA-A (Фиг. 16B).

[00294] 6) Получение и характеризация His(8)-aEpCAM-aCD3

[00295] Нужные элюированные фракции (обведены в рамку на Фиг. 16B) концентрировали и производили замену буфера на 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl, pH 7,5. Определение качества продукта при выпуске партии включало анализ при помощи эксклюзионной хроматографии и электрофореза в полиакриламидном геле. Для анализа методом SEC 10 мкг составленного продукта инжектировали в колонку для аналитической SEC и подтверждали, что более 95% продукта представлено мономерами (Фиг. 17A). Для анализа в полиакриламидном геле в присутствии SDS 5 мкг продукта загружали в 4-12% Bis-Tris гель и подтверждали, что чистота продукта составляет более 90% (Фиг. 17B).

[00296] Пример 3. Получение нерасщепленного и расщепленного AC1476 aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6) из культуры *E. coli*

[00297] 1) Экспрессия и очистка AC1476 aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6) из культуры *E. coli*

[00298] Слитый белок AC1476 (MKKNIAFLLASMFVFSIATNAYA-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6)) экспрессировали в запатентованном штамме *E. coli* AmE097. Культуру в объеме 10 л выращивали при температуре 37°C и снижали температуру до 28°C после истощения внесенной соли. Собранную кондиционированную среду центрифугировали для осаждения клеток. Надосадочную жидкость фильтровали с

использованием фильтровальной капсулы 3M LifeAssure с размерами пор 0,20 мкм. Колонку XK50 заполняли 100 мл смолы Toyopearl-AF-Chelate-650M (TOSOH Biosciences) и присоединяли к перистальтическому насосу при 4°C. Колонку обрабатывали 0,5 M NaOH, тщательно промывали дистиллированной водой и затем загружали 0,1 M Ni_2SO_4 и уравновешивали 5 объемами колонки (CV) уравновешивающего буфера (20 мМ Трис, 250 мМ NaCl, pH 7,5). После уравновешивания колонки в колонку загружали надосадочную жидкость, после чего пропускали промывочный буфер Triton, промывочный буфер 2 и элюировали аналогично процессу, описанному выше в Примере 2-1. Элюированные фракции собирали в объеме ¼ CV (25 мл) и добавляли EDTA до конечной концентрации 5 мМ для хелатирования свободных ионов никеля. Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях и окрашивали Кумасси. На основе результатов электрофореза в геле элюированные фракции 2-5 (в рамке) сохраняли для дальнейшей обработки. (Фиг. 18A)

[00299] Хроматография гидрофобного взаимодействия (HIC) была выбрана в качестве стадии дальнейшей очистки. Колонку XK24 в хроматографе AKTApurifier заполняли 50 мл смолы Toyopearl-Phenyl-650M (TOSOH Biosciences). Колонку обрабатывали 0,5 M NaOH, тщательно промывали дистиллированной водой и уравновешивали 5 CV буфера A (20 мМ Трис, 1 M $(NH_4)_2SO_4$, pH 7,5). Нужные фракции, элюированные на предыдущей стадии с колонки IMAC, объединяли вместе и добавляли сульфат аммония до конечной концентрации 1 M перед тем как загрузить в колонку. Собирали элюированные фракции в объеме ½ CV (25 мл) при элюировании градиентом от 100% до 50% буфера A в объеме 10 CV. Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле и окрашивали Кумасси. На основе результатов электрофореза в геле элюированные фракции, обведенные рамкой, объединяли для дальнейшей обработки (Фиг. 18B).

[00300] В качестве стадии окончательной очистки выбирали анионообменную хроматографию. Колонку XK24 заполняли 30 мл смолы Capto Q Impress (GE Healthcare), обрабатывали 0,5M NaOH, тщательно промывали дистиллированной водой, десорбировали 2 CV буфера B (20 мМ Tris, 500 мМ NaCl, pH 7,5) и уравновешивали 5 CV буфера A (20 мМ Tris pH 7,5). У пула элюированных фракций проводили замену буфера с применением ультрафильтрационного модуля Pellicon XL с мембраной Biomax 10 кДа в

20 мМ Tris pH 7,5 до тех пор, пока проводимость пермеата не достигала 8 мСм/см. Пермеат загружали в колонку Capto Q Impress и промывали колонку 3 CV 10% и 20% буфера B. Элюировали градиентом буфера B от 20% до 70% в количестве 10 CV и собирали фракции в объеме ¼ CV (7,5 мл). Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле и окрашивали Кумасси. На основе результатов электрофореза в геле элюированные фракции (обведенные рамкой) объединяли для приготовления продукта (Фиг. 18C).

[00301] 2) Получение и характеризация aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6)

[00302] Нужные элюированные фракции концентрировали и производили замену буфера на 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl, pH 7,5. Выпуск партии включал определение качества продукта согласно протоколу, описанному в Примере 2, методом SEC (Фиг. 19A) и SDS-PAGE (Фиг. 19B). Кроме того, 2 мкг загружали в 4-12% Bis-Tris полиакриламидный гель для электрофореза в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях (Фиг. 19C). Результаты SEC также использовали для определения кажущейся молекулярной массы и коэффициента кажущейся молекулярной массы (относительно фактической молекулярной массы) и гидродинамического радиуса aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6). Кажущаяся молекулярная масса составила 1,7 МДа, что соответствовало коэффициенту кажущейся молекулярной массы 12,3, рассчитанный гидродинамический радиус составил 10,8 нм.

[00303] Для дополнительного подтверждения подлинности молекулы проводили масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением (ESI-MS) и экспериментально установили массу 138652 Да, что на 1 Да превышало массу по сравнению с теоретической массой 138651 Да (Фиг. 20A). Для аналитической катионообменной хроматографии 10 мкг образца загружали в Agilent Bio SCX NP3 с подвижной фазой A, представляющей собой 20 мМ ацетат натрия с pH 4,5 и подвижной фазой B, представляющей собой 1 М хлорид натрия с pH 4,5. Применяли линейный градиент B от 0 до 100% в течение 20 минут и обнаружили единственный основной пик (Фиг. 20B).

[00304] 4) Расщепление aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6) при помощи MMP-9

[00305] После активации MMP-9 проводили расщепление 20 мг aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6) (ProTIA-X) согласно протоколу, описанному в Примере 2, но с применением активной рекомбинантной MMP-9 мыши в соотношении фермента к

субстрату 1:6000. Нерасщепленные и расщепленные продукты анализировали при помощи SDS-PAGE (Фиг. 21A).

[00306] 5) Очистка расщепленного aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6) после расщепления MMP-9

[00307] После подтверждения расщепления BSRS1 при помощи MMP-9 проводили анионообменную хроматографию для удаления отщепленного свободного XTEN и нерасщепленного ProTIA-X. Две 5-мл колонки с полипропиленовым корпусом (ThermoScientific) заполняли 3 мл смолы MacroCap Q (GE Healthcare), обрабатывали CIP (0,5M NaOH, 1M NaCl), тщательно промывали дистиллированной водой, десорбировали 2 CV буфера B (20 мМ Tris, 500 мМ NaCl, pH 7,5) и уравновешивали 5 CV буфера A (20 мМ Tris pH 7,5). Смесь для расщепления загружали в колонку. После загрузки и пропускания 1 CV буфера A осуществляли элюирование при помощи 150 мМ, 200 мМ, 250 мМ, 300 мМ и 500 мМ NaCl в объеме 2 CV каждый. Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris полиакриламидном геле в присутствии SDS и окрашивали Кумасси для определения фракций, содержащих ProTIA-A (Фиг. 21B).

[00308] 6) Получение и характеризация расщепленного aEpCAM-aCD3. Нужные фракции, содержащие ProTIA-A, концентрировали и производили замену буфера на 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl, pH 7,5. Выпуск партии включал определение качества продукта согласно протоколу, описанному в Примере 2, методом SEC (Фиг. 22A) и SDS-PAGE (Фиг. 22B). Кроме того, 2 мкг загружали в 4-12% Bis-Tris полиакриламидный гель для электрофореза в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях (Фиг. 22C). Результаты SEC также использовали для определения кажущейся молекулярной массы и коэффициента кажущейся молекулярной массы (относительно фактической молекулярной массы) и гидродинамического радиуса aEpCAM-aCD3. Кажущаяся молекулярная масса составила 39,8 кДа (в 23 раза меньше по сравнению с интактной конструкцией, см. выше), что соответствовало коэффициенту кажущейся молекулярной массы 0,7 (в 17 раз меньше по сравнению с интактной конструкцией, см. выше), а гидродинамический радиус составил 2,3 нм (в 5 раз меньше по сравнению с интактной конструкцией, см. выше).

[00309] Для дополнительного подтверждения подлинности молекулы проводили масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением (ESI-MS) и экспериментально установили массу 58071 Да, что на 4 Да превышало массу по сравнению с теоретической

массой 58067 Да (Фиг. 23А). Аналитическая катионообменная хроматография (Фиг. 23В) с использованием протокола, описанного ранее в пункте 2), также подтвердила гомогенность образца.

[00310] Пример 4. Анализ связывания EpCAM и стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00311] Связывающую способность ProTIA композиции анти-EpCAM x анти-CD3 верифицировали при помощи сэндвич-ELISA с применением EpCAM и конъюгата пероксидаза-белок L. В анализе связывания ELISA рекомбинантный человеческий EpCAM (rhEpCAM) (Sino BiologicalR&D Systems кат. номер 10694-H08H960-EP-50) иммобилизовали на 96-луночных плоскодонных планшетах в концентрации 0,1 мкг/100 мкл. После инкубации в течение ночи при 4°C планшет промывали и блокировали 3% бычьим сывороточным альбумином (BSA) в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшет вновь промывали, после чего добавляли нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (т.е. ProTIA без расщепляемой последовательности высвобождающего сегмента и AC1484, ProTIA композицию химерного полипептида) и обработанную протеазой и не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) в диапазоне концентраций. Диапазон концентраций, использованный для нерасщепляемой, обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA составил от 0,0006 до 5 нМ, достигался последовательным разведением 1:6, начиная от концентрации 5 нМ. Планшет инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы нерасщепляемая, расщепленная протеазой и нерасщепленная протеазой ProTIA связалась с rhEpCAM, иммобилизованным на планшете. Несвязанные компоненты удаляли на стадии отмывания и добавляли конъюгированный с пероксидазой белок L (PierceThermoFisher Scientific кат. номер 32420). После соответствующего периода инкубации, позволяющего белку L связаться с легкой цепью каппа scFv, все несвязанные реагенты удаляли на стадии отмывания и затем в каждую лунку добавляли субстрат тетраметилбензидин (TMB). TMB является хромогенным субстратом пероксидазы. После достижения необходимой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при 450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации нерасщепляемой, обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, связавшейся с rhEpCAM в сэндвич-ELISA с белком L. Строили

зависимость интенсивности развившейся окраски (измеренной OD) от концентрации белка и определяли концентрацию нерасщепляемой, расщепленной протеазой и нерасщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, вызывающую ответ, равный половине максимального (EC_{50}) при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism.

[00312] Как показано на Фиг. 24, нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 имела связывающую активность, сопоставимую активности не обработанной протеазой молекулы биспецифической ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, значения EC_{50} у которых составляли 320 пМ и 280 пМ, соответственно. Обработанная протеазой EC_{50} ProTIA имела наиболее выраженную связывающую активность в отношении rhEpCAM по сравнению с интактной не обработанной протеазой биспецифической молекулой или нерасщепляемой молекулой ProTIA, демонстрируя значение EC_{50} 120 пМ. Данные позволяют предположить, что присутствие XTEN864 препятствовало связыванию группировки анти-EpCAM со своим лигандом по меньшей мере в 2,3 раза.

[00313] Пример 5. Оценка связывания клеток методом проточной цитометрии

[00314] Связывание биспецифической композиции ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 оценивали методом флуоресцентно-активированной сортировки клеток (FACS) с использованием CD3-положительных человеческих клеток Jurkat и EpCAM-положительных человеческих клеток, выбранных из SW480, HCT-116, Kato III, MDA-MB-453, MCF-7, MT3, SK-Br-3, SK-OV-3, OVCAR-3, BT-474, HPAF-II, JIMT-1, MDA-MB-436, NCI-H322, NCI-H660, NCI-H69 и PC3. Клетки $CD3^+$ и $EpCAM^+$ инкубировали с рядом концентраций необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и положительными контролями анти-CD3 scFv и анти-EpCAM scFv в течение 30 мин при 4°C в буфере FACS, состоящем из PBS с 1% BSA и 0,05% азидом натрия. После нескольких отмывок в буфере FACS для удаления несвязанного исследуемого материала, клетки инкубировали с конъюгированным с FITC антителом к гистидиновой метке (Abcam кат. номер ab1206) в течение 30 мин при 4°C. Несвязанное конъюгированное с FITC антитело удаляли несколькими промываниями с помощью буфера FACS, а клетки ресуспендировали в буфере FACS для анализа на проточном цитометре FACS Calibur (Becton Dickinson) или эквивалентном приборе. Все данные проточной цитометрии анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo (FlowJo LLC) или эквивалентного.

[00315] При том, что анти-EpCAM scFv не должен связываться с клетками Jurkat, ожидалось, что анти-CD3 scFv, не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 будут связываться с клетками Jurkat, о чем свидетельствует увеличение интенсивности флуоресценции по сравнению с клетками Jurkat, инкубированными только с конъюгированным с FITC антителом к His-метке. Аналогично, ожидалось, что анти-EpCAM scFv, обработанная и не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 будут связываться с EpCAM-позитивными клетками, тогда как анти-CD3 scFv не будет связываться с EpCAM-положительными клетками. Ожидается, что эти данные будут отражать способность биспецифической композиции ProTIA анти-EpCAM x анти CD3 распознавать антигены CD3 и EpCAM, экспрессируемые на клетках Jurkat и панели клеточных линий человека, экспрессирующей EpCAM, соответственно. Кроме того, поскольку полимер XTEN в некоторой степени мешает поверхностному связыванию, ожидалось, что необработанная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 будет связываться с обоими антигенами CD3 и EpCAM с более низкой аффинностью, чем обработанная протеазой ProTIA.

[00316] Пример 6. Исследование цитотоксичности стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00317] Оценивали перенаправленную клеточную цитотоксичность композиций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с использованием мононуклеарных клеток периферической крови человека (PBMC) в качестве эффекторных клеток и EpCAM-положительных клеток карциномы человека, таких как клетки толстой кишки SW480 (или выбранных из HCT-116, Kato III, NCI-N87, MKN45, MDA-MB-231, MDA-MB-453, MCF-7, MT3, SK-Br-3, SK-OV-3, OVCAR3, BT-474, HPAF-II, JIMT-1, MDA-MB-436, NCI-H322, NCI-H660, NCI-H69 и PC3) в качестве мишеней. PBMC выделяли из цельной крови или препаратов лейкоконцентрата прошедших скрининг здоровых доноров, полученных из банков крови или Bioreclamation IVT путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла. PBMC ресуспендировали и культивировали при надлежащей плотности клеток, как описано ниже, в среде RPMI-1640/10% FCS/25 ммоль/мл HEPES при 37°C в инкубаторе во влажной атмосфере с 5% содержанием CO_2 до применения. Для определения цитолитической активности нерасщепляемой композиции анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484), расщепляемых композиций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанной и не обработанной протеазой (AC1278 & AC1476) применяли три типа исследований, а

именно анализ высвобождения лактатдегидрогеназы (LDH), анализ каспазы 3/7 и анализ на основе FACS.

[00318] Анализ высвобождения LDH как нерадиоактивный метод исследования цитотоксичности, альтернативный анализу высвобождения ^{51}Cr, позволяет измерять стабильный цитоплазматический фермент LDH, который высвобождается при лизисе клеток, схоже с тем, как происходит высвобождение ^{51}Cr в радиоактивных методах. Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость LDH измеряли ферментативным методом, в котором соль тетразолия превращается в красный формазан; количество образовавшегося окрашенного продукта пропорционально числу лизированных клеток.

[00319] Цитотоксические свойства обработанных протеазой и необработанных композиций ProTIA анти-EpCAM x анти CD3 в отношении SW480 анализировали следующим образом: плотность клеток SW480 и PBMC сначала доводили до $2,5 \times 10^5$ клеток/мл и 1×10^6 клеток/мл, соответственно, в среде для анализа, состоящей из RPMI без фенолового красного с 5% FCS. (Среду без фенолового красного с 5% FCS использовали для минимизации фонового поглощения при использовании набора для нерадиоактивного анализа цитотоксичности Promega CytoTox 96 (кат. № G1780)). Для получения соотношения эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1 аликвоты PBMC по 100 мкл культивировали совместно с аликвотами клеток SW480 по 80 мкл на лунку для анализа в 96-луночном круглодонном планшете. Образцы обработанной и не обработанной протеазой композиции анти-EpCAM x анти-CD3 разводили в среде для анализа до желаемой концентрации и добавляли по 20 мкл в соответствующие экспериментальные лунки, доводя общий объем до 200 мкл. Расщепленную протеазой ProTIA оценивали в 12 концентрациях, полученных в серии 5-кратных разведений, начиная с 440 нМ, с получением конечных концентраций в диапазоне от 0,000005 до 44 нМ. Необработанную нерасщепленную композицию ProTIA оценивали по 12 концентрациям, полученных в серии 5-кратных разведений, начиная с 184 нМ, с получением конечных концентраций в диапазоне от 0,000002 до 18,4 нМ. Одновременно в анализ включали контроли, которые включали спонтанное высвобождение LDH эффекторными-клетками и клетками-мишенями; максимальное высвобождение LDH клетками-мишенями; поправку на объем вследствие добавления лизирующего раствора и фоновые значения культуральной среды. Для спонтанного высвобождения LDH клетками-мишенями SW480 инкубировали в 200

мкл среды для анализа в отсутствие какой-либо обработанной или не обработанной протеазой композиции. Для спонтанного высвобождения LDH эффекторными клетками PBMC инкубировали в 200 мкл среды для анализа в отсутствие какой-либо обработанной или не обработанной протеазой композиции. Максимальное высвобождение LDH клетками-мишенями определяли путем добавления 20 мкл 10-кратного лизирующего раствора к SW480 (общий объем 220 мкл) и инкубации клеток-мишеней в присутствии лизирующего раствора в течение 45 минут с последующим сбором супернатанта для измерения LDH. Для внесения поправки на объем добавляли 20 мкл 10x лизирующего раствора к 200 мкл среды для анализа, в то время как фоновые значения культуральной среды получали путем инкубации 200 мкл среды для анализа. Планшет, в лунках которого содержались в дубликатах обработанные и не обработанные протеазой композиции ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и все соответствующие контроли, инкубировали в течение ночи при 37°C, в инкубаторе во влажной атмосфере с 5% содержанием CO_2.

[00320] Количество LDH, высвобождаемой в супернатант в результате лизиса клеток, измеряли с использованием набора Promega CytoTox согласно инструкциям производителя. Вкратце, 50 мкл супернатанта из каждой лунки аналитического планшета переносили в соответствующую лунку плоскодонного планшета для проведения ферментативной реакции. В каждую лунку планшета для проведения ферментативной реакции добавляли 50 мкл восстановленного субстрата. Затем планшет накрывали, защищали от света и оставляли инкубироваться при комнатной температуре в течение 30 минут. По окончании необходимого периода инкубации в каждую лунку добавляли 50 мкл останавливающего раствора и регистрировали поглощение при 490 нм.

[00321] Затем проводили анализ данных следующим образом:

[00322] 1. Исследуемый показатель: отношение эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1 (среднее значение) - фоновое значение культуральной среды (среднее значение)

[00323] Спонтанное высвобождение клетками-мишенями SW480 (среднее значение) - фоновое значение культуральной среды (среднее значение)

[00324] Спонтанное высвобождение эффекторными клетками PBMC (среднее значение) - фоновое значение культуральной среды (среднее значение)

[00325] 2. Максимальное высвобождение клетками-мишенями SW480 (среднее значение) - контроль коррекции громкости (среднее значение)

[00326] 3. Специфический лизис, % = [(Исследуемый показатель - спонтанное

высвобождение клетками-мишенями SW480 - Спонтанное высвобождение эффекторными клетками PBMC) / (Максимальное высвобождение клетками-мишенями SW480 - Спонтанное высвобождение клетками-мишенями SW480)] X 100

[00327] 4. Затем строили зависимость показателей специфического лизиса в % от концентрации обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и определяли концентрацию белка, которая вызывала ответ, равный половине максимального (EC_{50}) при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism.

[00328] Как показано на Фиг. 25, цитотоксический эффект при воздействии на клетки SW480 обработанной протеазой ProTIA и не обработанных протеазой композиций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в присутствии PBMC имел дозозависимый характер; ProTIA, обработанная протеазой, была в 48 раз более активна, чем интактная, не обработанная протеазой ProTIA (EC_{50} 2,5 мкМ и 120 мкМ, соответственно).

[00329] Дополнительно оценивали специфичность ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 путем сравнения цитотоксической активности ProTIA, обработанной протеазой и не обработанной протеазой, с активностью неконъюгированного моноспецифического scFv против EpCAM и моноспецифического scFv против CD3 в анализе LDH. Вкратце, клетки PBMC и SW480 совместно культивировали при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1 в среде для анализа в 96-луночном круглодонном планшете, как описано выше. Образцы обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и неконъюгированных моноспецифических scFv анти-EpCAM и моноспецифических scFv анти-CD3 исследовали в 12 концентрациях, полученных в серии 5-кратных разведений с получением конечных концентраций в диапазоне от 0,00005 до 45 нМ в общем объеме 200 мкл. Наряду с экспериментальными конструкциями в анализ также включали все соответствующие контроли, как описано выше, и планшет инкубировали в течение ночи в инкубаторе во влажной атмосфере с 5% содержанием CO_2 при 37°C.

[00330] Количество LDH, высвобождаемой в супернатант в результате лизиса клеток, измеряли с использованием набора Promega CytoTox Assay, а результаты анализировали, как описано выше.

[00331] Как и ожидалось, воздействие на клетки SW480 обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в присутствии PBMC опосредовало повышенную

цитотоксичность по сравнению с необработанной ProTIA. Важно отметить, что сочетание моноспецифического scFv против EpCAM и моноспецифического scFv против CD3 в присутствии клеток-мишеней SW480 и PBMC не вызывало какой-либо цитотоксической активности (Фиг. 26). Данные указывают на то, что связывание группировки, нацеленной на EpCAM, с группировкой, нацеленной на CD3 эффекторных клеток в форме биспецифичной молекулы необходимо для активного рекрутирования CD3-положительных клеток в непосредственной близости от клеток-мишеней для индуцированной цитотоксичности.

[00332] Авторы изобретения также предположили, что последовательность расщепления высвобождающего сегмента, присутствующая в ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, может сама по себе быть чувствительной к расщеплению протеазами, высвобождаемыми опухолевыми клетками или активированными CD3-позитивными Т-клетками (например, гранзимами). Для проверки этой гипотезы сконструировали нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 без высвобождающего сегмента (AC 1357) и исследовали в сочетании с обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC 1278). Все три ProTIA анализировали в тесте с высвобождением LDH при соотношении PBMC и SW480 5:1 в 12 концентрациях в диапазоне от 0,00005 до 45 нМ, полученных при последовательном 5-кратном разведении.

[00333] Как показано на Фиг. 27, не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 является в 32 раза менее активной, чем ProTIA, обработанная протеазой (EC_{50} 288 пМ и 8,9 пМ). Интересно, что нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (т.е. ProTIA без последовательности расщепления высвобождающего сегмента) в 371 раз менее активна, чем расщепленная протеазой ProTIA (EC_{50} 3300 пМ и 8,9 пМ). Результаты позволяют предположить, что высвобождающий сегмент, содержащийся в расщепляемой молекуле ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, подвержен некоторому расщеплению протеазами, которые, вероятно, высвобождаются из опухолевых клеток и/или активированных CD3-положительных Т-клеток.

[00334] Нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 без сегмента высвобождения (AC1484) и обработанную и не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) также исследовали на линии клеток, происходящих из яичников человека. В этом эксперименте PBMC смешивали с клетками яичника SK-OV-3 в соотношении 5:1, и все три молекулы ProTIA исследовали в тесте на высвобождение LDH в 12 концентрациях,

полученных при последовательном 5-кратном разведении, как описано выше. Как и ожидалось, профиль активности трех молекул ProTIA в отношении линии клеток яичника SK-OV-3 оказался схожим с активностью наблюдаемой в отношении линии клеток толстой кишки SW480. В клетках SK-OV-3 не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 была в 45 раз менее активна, чем ProTIA, обработанная протеазой (EC_{50} 136 пМ и 3 пМ); а нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 была в 600 раз менее активна, чем расщепленная протеазой ProTIA (EC_{50} 1793 пМ против 3 пМ) (Фиг. 30).

[00335] Пример 7. Оценка клеточного лизиса методом проточной цитометрии

[00336] Для анализа лизиса клеток методом проточной цитометрии через 24 ч EpCAM-положительные клетки-мишени SK-OV-3 (или клетки-мишени, выбранные из клеточных линий HCT-116, Kato III, MDA-MB-453, MCF-7, MKN45, MT3, NCI-N87, SK-Br-3, SW480, OVCAR3, BT-474, HPAF-II, JIMT-1, MDA-MB-436, NCI-H322, NCI-H660, NCI-H69 и PC3) метили флуоресцентным красителем для клеточной мембраны CellVue Maroon (Affymetrix/eBioscience, кат. номер 88-0870-16) согласно инструкциям производителя. В альтернативном варианте также можно использовать PKH26 (Sigma, кат. номер MINI26 и PKH26GL). Вкратце, клетки SK-OV-3 отмывали дважды PBS после чего ресуспендировали 2 x 10^6 клеток в 0,1 мл разбавителя C, входящего в набор CellVue Maroon. В отдельной пробирке смешивали 2 мкл красителя CellVue Maroon и 0,5 мл разбавителя C, а затем добавляли 0,1 мл к суспензии клеток SK-OV-3. Клеточную суспензию и краситель CellVue Maroon смешивали и инкубировали в течение 2 мин при комнатной температуре. Затем останавливали мечение добавлением 0,2 мл FCS. Меченые клетки дважды отмывали полной культуральной средой (RPMI-1640, содержащей 10% FCS) и определяли общее число жизнеспособных клеток по вытеснению трипанового синего. 1x10^5 PBMC культивировали в 96-луночном круглодонном планшете совместно в 2 x 10^4 клетками SK-OV-3 на лунку, меченными CellVue Maroon, при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1 в общем объеме 200 мкл на лунку, в отсутствие или в присутствии обработанных или не обработанных протеазой образцов ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в указанном диапазоне концентраций. Через 24 ч клетки собирали при помощи аккутазы (Innovative Cell Technologies, кат. номер AT104) и отмывали 2% FCS/PBS. Перед анализом на проточном цитометре Guava easyCyte (Millipore), клетки ресуспендировали в 100 мкл 2% FCS/PBS с добавлением 2,5 мкг/мл 7-AAD (Affymetrix/eBioscience, кат. номер 00-6993-50) для различения живых (7-AAD-

негативных) и мертвых (7-AAD-позитивных) клеток. Данные FACS анализировали в программе guavaSoft (Millipore) и рассчитывали процентное содержание мертвых клеток-мишеней по числу 7-AAD-позитивных/CellVue Maroon-позитивных клеток, поделенному на общее количество CellVue Maroon-позитивных клеток.

[00337] Кривые зависимости между дозой (концентрацией) ProTIA и гибелью клеток, характеризующие цитотоксичность, анализировали при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism и, таким образом, определяли концентрацию ProTIA, вызывающую цитотоксичность, равную половине максимальной.

[00338] Результаты оценки цитотоксичности при помощи проточной цитометрии должны согласовываться с результатами, полученными при определении LDH. Предположительно, при воздействии на клетки SK-OV-3 расщепленных и нерасщепленных протеазой композиций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в отсутствие PBMC эффект будет отсутствовать. Аналогично, ожидалось, что PBMC не будут активироваться в присутствии ProTIA без клеток-мишеней. Ожидалось, что эти результаты будут свидетельствовать, что композиции ProTIA должны образовать кластеры на поверхности клеток-мишеней для стимуляции цитотоксической активности PBMC. В присутствии PBMC и клеток-мишеней будет наблюдаться дозозависимый цитотоксический эффект, обусловленный предварительно обработанной или не обработанной протеазой ProTIA. Кроме того, ожидалось, что данные результаты продемонстрируют, что воздействие на клетки SK-OV-3 необработанной ProTIA (в отсутствие протеазы) в присутствии PBMC будет вызывать пониженную цитотоксичность по сравнению с расщепленной протеазой композицией ProTIA.

[00339] Описанные выше эксперименты по определению цитотоксичности выполняли и с другими биспецифическими композициями ProTIA, такими как композиция ProTIA анти-CD19 x анти-CD3 и композиция ProTIA анти-HER2 x анти-CD3. В этих случаях вместо EpCAM-положительных клеток использовали CD19 и HER2-положительные клетки-мишени. Примеры клеточных линий, экспрессирующих CD19, включают NAML-6, Blin-1, SKW6.4, Raji, Daudi и BJAB, но не ограничиваются ими. Для адресного воздействия на HER2, использовали HER2-положительные клеточные линии, такие как SK-BR-3, BT474, HCC-1954, MDA-MB-453, SK-OV-3, NCI-N87, JIMT-1, HCT-116.

[00340] <u>Пример 8. Исследование маркеров активации Т-клеток в присутствии</u>

стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00341] Для измерения маркеров активации, индуцированной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (CD69 и CD25), 1 X 10^5 PBMC или выделенных CD3+ клеток культивировали совместно в RPMI-1640, содержащей 10% FCS с 2 X 10^4 клеток SK-OV-3 или OVCAR3 на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1) в присутствии ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. После 20 ч инкубации при 37°C в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO_2 клетки окрашивали антителом к CD4, конъюгированным с PECy5, антителом к CD8, конъюгированным с APC, антителом к CD25, конъюгированным с PE и антителом к CD69, конъюгированным с FITC (все антитела из компании BioLegend) в буфере FACS (1% BSA/PBS) при 4°C, дважды отмывали буфером FACS и затем ресуспендировали в буфере FACS для анализа на проточном цитометре Guava easyCyte (Millipore).

[00342] Как и ожидалось, профиль экспрессии маркера активации Т-клеток в присутствии трех молекул ProTIA, исследованный на линии клеток яичника SK-OV-3 оказался схожим с тем, что наблюдалось в исследовании цитотоксичности по высвобождению LDH. При использовании клеток SK-OV-3 активация популяций CD69 или CD8 и CD4 PBMC под воздействием необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) была приблизительно в 70 раз ниже, чем под воздействием обработанной протеазой AC1476 ProTIA (EC_{50} 540 пМ против 6,7 пМ для CD8+, EC_{50} 430 пМ против 6,3 пМ для CD4+); а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) была приблизительно в 1000 раз ниже, чем под воздействием расщепленной протеазой ProTIA (EC_{50} 8700 пМ против 6,7 пМ для CD8+, EC_{50} 6000 пМ против 6,3 пМ для CD4+) (Фиг. 42).

[00343] Аналогично, активация CD69 и CD25 у CD8 и CD4 популяций клеток PBMC под воздействием необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) была приблизительно в 60 раз ниже, чем под воздействием обработанной протеазой ProTIA (AC1476, обработанная MMP-9), а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) была приблизительно в 1300 раз ниже, чем под воздействием расщепленной протеазой ProTIA (Фиг. 43).

[00344] Для подтверждения, что механизм действия опосредован CD3+ клетками, клетки SK-OV-3 использовали в качестве клеток-мишеней, при этом активация CD69 в CD8 и

CD4 популяциях выделенных CD3+ клеток под воздействием необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) была приблизительно в 100 раз ниже, чем под воздействием обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 260 пМ против 2,4 пМ для CD8+, EC_{50} 240 пМ против 2,2 пМ для CD4+); а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) приблизительно в 2000 раз ниже, чем под воздействием расщепленной протеазой ProTIA (EC_{50} 5000 пМ против 2,4 пМ для CD8+, EC_{50} 5000 пМ против 2,2 пМ для CD4+) (Фиг. 44). Активация CD69 и CD25 в CD8 и CD4 популяциях выделенных CD3+ клеток под воздействием необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) была приблизительно в 100 раз меньше, чем под воздействием обработанной протеазой ProTIA (AC1476, обработанная MMP-9), а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) приблизительно в 2000 раз меньше, чем под воздействием расщепленной протеазой ProTIA (Фиг. 45).

[00345] При использовании клеток OVCAR3 активация CD69 в CD8 и CD4 популяциях выделенных CD3+ клеток необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) была приблизительно в 10 раз меньше, чем под воздействием обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 14 пМ против 1,8 пМ для CD8+, EC_{50} 16 пМ против 1,9 пМ для CD4+); а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) была приблизительно в 1000 раз меньше, чем под воздействием расщепленной протеазой ProTIA (EC_{50} 2000 пМ против 1,8 пМ для CD8+, EC_{50} 1500 пМ против 1,9 пМ для CD4+) (Фиг. 46). Активация CD69 и CD25 в CD8 и CD4 популяциях выделенных CD3+ клеток необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) была также приблизительно в 10 раз меньше, чем под воздействием обработанной протеазой ProTIA (AC1476, обработанная MMP-9), а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) также была приблизительно в 1000 раз меньше, чем под воздействием расщепленной протеазой ProTIA (AC1476, обработанная MMP-9). Эти результаты позволяют предположить, что необработанная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 расщеплялась в ходе исследования в большей степени в присутствии клеток OVCAR3 по сравнению с клетками SK-OV-3 (Фиг. 47).

[00346] В качестве дополнительного подтверждения активации Т-клеток под воздействием ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в присутствии клеток-мишеней измеряли стимуляцию CD69 и гранзима B. PBMC ($1 X 10^5$) культивировали совместно с $2 X 10^4$ клеток OVCAR3 на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1) в

присутствии ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. Через 20 ч инкубации при 37°C, в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO2, клетки окрашивали конъюгированным с PECy5 антителом к CD4, конъюгированным с APC антителом к CD8 и конъюгированным с FITC антителом к CD69 (все антитела из компании BioLegend) в буфере FACS (1% BSA/PBS) при 4°C. Затем клетки фиксировали и пермеабилизировали 0,1% Triton X-100/PBS перед тем, как окрасить конъюгированным с PE антителом к гранзиму B (ThermoFisher, кат. номер MHGB04) в буфере FACS. Клетки отмывали буфером FACS и затем ресуспендировали в буфере FACS для анализа на проточном цитометре Guava easyCyte.

[00347] Как и ожидалось, и CD69 и гранзим B экспрессировались активированными ProTIA T-клетками в присутствии клеток OVCAR3. Кроме того, большая доля CD8+ клеток экспрессировала гранзим B по сравнению с CD4+ клетками (Фиг. 48 и 49).

[00348] Пример 9. Фармакокинетические свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00349] Фармакокинетические свойства ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 исследовали на мышах C57BL/6. Трем мышам из группы 1 внутривенно вводили 4 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1278), а 3 мышам из группы 2 внутривенно вводили не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1278). В надлежащие моменты времени брали кровь в пробирки с литиевой солью гепарина и получали плазму. У животных, получавших обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, плазму получали в следующие моменты времени: перед введением, через 2 мин, 15 мин, 30 мин, 2 ч, 4 ч, 8 ч и 24 ч. У мышей, получавших необработанную ProTIA, плазму получали в следующие моменты времени: перед введением, через 4 ч, 8 ч, 24 ч, 2 сут, 4 сут, 6 сут и 7 сут. Концентрацию обработанной протеазой ProTIA в плазме определяли с помощью сэндвич ELISA с применением rhEpCAM и биотинилированного антитела к His метке и расщепленной протеазой ProTIA в качестве стандарта; тогда как концентрацию необработанной ProTIA в плазме определяли при помощи сэндвич ELISA с применением rhEpCAM и биотинилированного антитела к XTEN и нерасщепленной ProTIA в качестве стандарта.

[00350] Вкратце, на поверхности планшета для ELISA (Nunc Maxisorp кат. номер 442404) иммобилизовали 0,1 мкг/100 мкл на лунку rhEpCAM (R&D Systems, кат. номер EHH104111). После инкубации в течение ночи при 4°C, планшет для ELISA отмывали и

блокировали 3% BSA в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет вновь промывали и затем добавляли обработанную и не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в соответствующем диапазоне концентраций в качестве стандарта, а также соответствующие контроли качества и образцы исследуемой плазмы. Планшет инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы стандарты ProTIA, контроли качества и исследуемые образцы связались с rhEpCAM, иммобилизованным на поверхности планшета. Несвязавшиеся компоненты удаляли путем нескольких промываний. Для выявления расщепленной протеазой ProTIA добавляли биотинилированное антитело к His метке (R&D Systems, кат. номер BAM050) по 0,2 мкг/100 мкл и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 1 ч. Для выявления не обработанной протеазой ProTIA добавляли биотинилированное антитело к XTEN (антитело собственного приготовления) по 0,1 мкг/100 мкл и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 1 ч. После отмывания всех несвязавшихся биотинилированных реагентов добавляли стрептавидин, конъюгированный с HRP (Thermo Scientific, кат. номер 21130) в разведении 1:30 000 и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 1 ч. После нескольких отмывок в каждую лунку добавляли субстрат TMB. После достижения необходимой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при 450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации обработанной и не обработанной протеазой ProTIA, захваченной в соответствующем сэндвич-ELISA с применением rhEpCAM/антитела к биотинилированной His метке и rhEpCAM/антитела к биотинилированному XTEN. Концентрацию ProTIA, присутствующей в образцах плазмы, определяли по соответствующим стандартным кривым для обработанной или не обработанной протеазой ProTIA с применением программы SoftMax Pro. Расчет фармакокинетических параметров конечного периода полувыведения ($T_{1/2}$) расщепленной и нерасщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 выполняли в программе GraphPad Prism.

[00351] В соответствии с ожиданиями, обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 имела короткий конечный период полуэлиминации ($T_{1/2}$), равный приблизительно 3,5 ч, тогда как не обработанная протеазой ProTIA (с присоединенным XTEN) имела пролонгированный $T_{1/2}$ равный 32 ч (Фиг. 28), что подтвердило, что интактная молекула ProTIA имела существенно больший период полувыведения (по

меньшей мере в 9 раз больше), чем расщепленная молекула.

[00352] Пример 10. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 при раннем начале лечения на модели с SW480

[00353] Экспериментальную оценку эффективности *in vivo* проводили на мышах NOD/SCID с иммунодефицитом, характеризующихся дефицитом Т и В-клеток и нарушением функции естественных киллерных клеток. Мышей содержали в стерильных стандартных условиях и проводили эксперименты в соответствии с рекомендациями Институционального комитета по уходу за животными и их использованию (аккредитованного Международной ассоциацией по аттестации и аккредитации содержания лабораторных животных). Эффективность обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1278) оценивали с применением модели с ксенотрансплантата карциномы человека SW480. Вкратце, в сутки 0 шесть групп по 5 мышей NOD/SCID получали подкожную инъекцию в правый бок 1 X 10^7 человеческих PBMC, смешанных с 1 x 10^7 клеток SW480. Через час после инокуляции SW480/PBMC группа 1 получала инъекцию носителя (PBS+0,05% Tween 80), группы 2 и 3 - 0,04 мг/кг и 0,4 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, соответственно, группы 4 и 5 - 0,1 мг/кг и 1 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, а группа 6 - 1 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Кроме того, группы 1 - 5, но не группа 6, получали четыре дополнительные дозы, которые вводили ежедневно с 1 по 4 сутки.

[00354] Опухоли измеряли дважды в неделю на протяжении 35 суток при помощи штангенциркуля в двух перпендикулярных измерениях и рассчитывали объем опухолей по формуле (ширина^2 X длина) / 2. Массу тела, внешний вид и клинические симптомы, такие как судороги, тремор, вялость, гиперреактивность, пилоэрекция, затрудненное / учащенное дыхание, окраска и изъязвление опухоли и смерть, также тщательно контролировались как показатели токсичности, связанной с лечением. Конечную точку в исследовании определяли как объем опухоли 2000 мм^3 или выживаемость до 36 суток, в зависимости от того, что наступит раньше. Индекс ингибирования роста опухоли в процентах (%TGI) рассчитывали для каждой группы воздействия по формуле: ((средний объем опухоли в контрольной группе, получавшей носитель PBS – средний объем опухоли в группе, получавшей лечение ProTIA)/средний объем опухоли в контрольной

группе, получавшей носитель PBS) x 100. Воздействие, при котором %TGI в группе был 60% или более, считалось терапевтически активным.

[00355] На 36 сутки в группе 1, в которой мыши получали только носитель PBS в присутствии человеческих эффекторных клеток, клетки не ингибировали прогрессирование опухоли, демонстрируя, что человеческие эффекторные клетки в отдельности не оказывают противоопухолевый эффект. Лечение обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,04 мг/кг и 0,4 мг/кг (группы 2 и 3, соответственно) в присутствии человеческих эффекторных клеток демонстрировали четкий дозозависимый ответ в виде подавления опухолевого роста, при этом доза 0,4 мг/кг обеспечивала большую защиту (%TGI = 84%), чем доза 0,04 мг/кг (%TGI = 78%). Важно отметить, что воздействие ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в концентрации 1 мг/кг (группа 5) в присутствии человеческих эффекторных клеток также ингибировало опухолевый рост (% TGI = 83%) почти в той же степени, что и обработанная протеазой ProTIA в молярном эквиваленте 0,4 мг/кг (группа 3). Данные позволяют предположить, что в дозе 1 мг/кг, достаточное количества ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 эффективно расщеплялось протеазами в опухолевом окружении *in vivo,* превращаясь в более активную не несущую XTEN группировку анти-EpCAM x анти-CD3 и обеспечивая наблюдавшуюся эффективность. Отсутствие регрессии опухоли в группе 4, получавшей 0,1 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (%TGI = 8%) позволяет предположить, что в указанной дозе высвобождалось недостаточно не несущей XTEN группировки анти-EpCAM x анти-CD3, чтобы индуцировать заметную регрессию опухоли. В группе 6, получавшей однократную дозу 1 мг/кг ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, пороговое значение терапевтической активности не было достигнуто (%TGI = 52%), несмотря на наблюдавшееся подавление опухолевого роста по сравнению с контрольной группой (Фиг. 31). Результаты позволяют предположить, что ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 может эффективно расщепляться в окружении опухоли SW480 и ингибировать прогрессирование опухоли, а концентрация и количество лекарственного средства, воздействующее на организм, являются важными факторами для определения эффективности лекарства.

[00356] Следует отметить, что существенной потери массы тела не наблюдалось ни в одной из групп, получавших лечение ProTIA, а также в контрольной группе, получавшей носитель, что указывало, что все воздействия хорошо переносились (Фиг. 32).

[00357] Специфичность противоопухолевой активности вариантов не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 оценивали на мышах NOD/SCID, инокулированных SW480/PBMC, во многом аналогично исследованию, описанному выше, но в каждую группу воздействия входило по восемь мышей. В данном исследовании раннее начало лечения носителем PBS, служившим в качестве контроля, нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1357 или AC1484), биспецифической ProTIA, служившей отрицательным контролем (обладающей связывающей активностью в отношении CD3, но не EpCAM), не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1278, AC1476, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714, AC1715) или обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 начинали через четыре часа после инокуляции SW480/PBMC. В данном исследовании использовали концентрацию не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 1 мг/кг, установленную в вышеописанном исследовании, а биспецифическую ProTIA, служившую отрицательным контролем, исследуемые нерасщепляемую и обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 вводили внутривенно в эквимолярной концентрации. Объем опухоли, массу тела и клинические симптомы регистрировали два раза в неделю на протяжении 35 суток.

[00358] Не ожидалось, что воздействие носителем PBS и биспецифической контрольной ProTIA в присутствии человеческих эффекторных клеток будет индуцировать противоопухолевые эффекты, свидетельствуя о том, что ни человеческие эффекторные клетки в отдельности, ни нацеленная на EpCAM группировка не способны оказывать противоопухолевое влияние. Ожидается, что мыши в обеих группах воздействия достигнут конечной точки исследования (летальный исход до 35 суток или объем опухоли 2000 мм^3). Ожидается, что пять суточных доз обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в присутствии человеческих эффекторных клеток будут вызывать супрессию опухолевого роста. Ожидается, что лечение эквимолярными концентрациями нерасщепляемой ProTIA будет в минимальной степени замедлять опухолевый рост, поскольку она не содержит субстрата для расщепления протеазой.

[00359] <u>Пример 11. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели развившейся колоректальной опухоли</u>

[00360] На модели развившейся колоректальной опухоли мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-

2Rg^{null}) или NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ) независимо имплантировали опухолевые клетки SW480 или HCT-116 в сутки 0. (Мыши NOG или NSG представляют собой мышей NOD/SCID, несущих мутацию IL-2Rg, приводящую к отсутствию у мышей Т-, В- и NK-клеток, нарушению функций макрофагов, дендритных клеток и пониженной активности комплемента.) Затем им внутривенно или внутрибрюшинно вводили PBMC человека между 3 и 10 сутками. Когда опухоли SW480 и HCT-116 достигали объема 150 мм^3, начинали лечение обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, интактной не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и нерасщепляемой формой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в виде трех доз в неделю на протяжении трех-четырех недель. Ожидается, что и расщепленная протеазой и не обработанная протеазой ProTIA (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715) приведет к уменьшению или эрадикации установленных опухолей SW480 и HCT-116, при этом не обработанная протеазой ProTIA может потенциально оказывать более эффективное терапевтическое воздействие с течением времени, в результате чего будет обладать более эффективным противоопухолевым влиянием и лучшим профилем безопасности по сравнению с обработанной протеазой ProTIA. Также предполагается, что различия в высвобождающих сегментах вероятно, будут играть роль в профиле эффективности не обработанных протеазой ProTIA.

[00361] Ожидается, что нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1484) будет в минимальной степени замедлять опухолевый рост, поскольку она не содержит субстратной последовательности для расщепления протеазой в опухолевом окружении.

[00362] Пример 12. Мультиплексный анализ человеческих Th1/Th2 цитокинов с использованием стимулированных нормальных PBMC здорового человека, а также интактной и обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3

[00363] Для оценки безопасности способности интактной и расщепленной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 стимулировать высвобождение Т-клеточных цитокинов в анализе на клетках *in vitro* анализировали панель цитокинов, включающую IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа, IFN-гамма, с использованием мультиплексного анализа (CBA) в образцах супернатантов культивированных PBMC человека, стимулированных обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Антитело OKT3 к CD3 человека использовали в качестве положительного контроля, а необработанные лунки

служили в качестве отрицательного контроля.

[00364] Вкратце, OKT3 (0, 10 нМ, 100 нМ и 1000 нМ), обработанную и не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1278, 10 нМ, 100 нМ, 1000 нМ и 2000 нМ) иммобилизовали на поверхности 96-луночного плоскодонного планшета, оставляя содержимое лунок испаряться насухо в течение ночи в ламинаре. Затем лунки однократно аккуратно промывали PBS и в каждую лунку добавляли $1X10^6$ PBMC в объеме 200 мкл. Затем планшет инкубировали при 37°C, 5% CO_2 в течение 24 ч, после чего культуральную надосадочную жидкость собирали из каждой лунки и анализировали высвобожденные цитокины с помощью валидированного коммерческого набора CBA (BD CBA human Th1/Th2 cytokine kit, кат. номер 551809) методом проточной цитометрии согласно инструкциям производителя.

[00365] Результаты:

[00366] Необработанные результаты определения уровней цитокинов представлены в Таблице 12 и графически изображены на Фиг. 33-35.

Таблица 12. Уровни цитокинов в ответ на исследуемое соединение

Цитокин	Соединение (нМ)	Определяемый цитокин (пг/мл)			
		Без воздействия	OKT3	ProTIA-X	ProTIA-A
IL-2	0	7,8			
IL-4		6,1			
IL-6		33,4			
IL-10		20,7			
TNFα		2,1			
IFNγ		0,0			
IL-2	10		12,8	9,0	7,5
IL-4			9,5	4,1	11,2
IL-6			130,2	26,3	25,2
IL-10			23,8	20,8	16,8
TNFα			6,1	4,8	2,1
IFNγ			47,4	1,5	1,1
IL-2	100		250,6	9,4	13,1
IL-4			32,7	7,7	9,2
IL-6			6658,1	22,9	56,4
IL-10			486,3	18,3	20,7
TNFα			6120,1	2,8	10,0
IFNγ			15512,9	3,5	106,5
IL-2	1000		156,0	8,1	23,8
IL-4			33,5	7,7	5,8
IL-6			7962,1	32,7	3683,7
IL-10			206,0	16,4	88,0
TNFα			10118,1	4,6	91,5
IFNγ			14060,9	0,0	1371,5
IL-2	2000			9,2	28,5
IL-4				9,8	9,7
IL-6				35,2	589,3
IL-10				16,9	163,9
TNFα				3,1	250,4
IFNγ				0,4	3330,0

[00367] Как и ожидалось, OKT3 индуцировал устойчивую секрецию всех оцениваемых цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа, IFN-гамма), чего не наблюдалось в необработанных лунках, что подтверждало качество выполнения анализа цитокинов CBA. Стимуляция обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 запускала выраженную экспрессию всех протестированных цитокинов, особенно в концентрациях, превышающих 100 нМ. Напротив, когда активатором служила интактная нерасщепленная молекула ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в диапазоне концентраций от 10 до 2000 нМ,

регистрировались базальные уровни IL-2, IL-6, IL-10, TNF-альфа и IFN-гамма. При этом, при индуцровании не обработанной протеазой ProTIA, регистрировался значительный уровень IL-4, однако уровень IL-4 не превышал уровень, наблюдавшийся с обработанной протеазой ProTIA (Фиг. 33-35). Эти данные позволяют предположить, что полимер XTEN интактной композиции ProTIA обеспечивает значительный экранирующий эффект и препятствует цитокиновому ответу стимулированных PBMC по сравнению с обработанной протеазой композицией ProTIA, из которой высвобождается фрагмент EpCAM x анти-CD3.

[00368] Пример 13. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели раннего лечения HCT-116

[00369] Экспериментальную оценку эффективности *in vivo* проводили на мышах NOD/SCID с иммунодефицитом, характеризующихся дефицитом T и B-клеток и нарушением функции естественных киллерных клеток. Мышей содержали в стерильных стандартных условиях и проводили эксперименты в соответствии с рекомендациями Международной ассоциацией по аттестации и аккредитации содержания лабораторных животных. Эффективность обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) наряду с нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (т.е. ProTIA без расщепляемой последовательности высвобождающего сегмента, примером которой является AC1484) оценивали с применением модели ксенотрансплантата колоректальной карциномы человека HCT-116. Вкратце, в сутки 0 четыре группы по 5 мышей NOD/SCID получали подкожную инъекцию в правый бок 5 X 10^6 человеческих PBMC, смешанных с 5 X 10^6 клеток HCT-116. Через час после инокуляции HCT-116/PBMC группа 1 получала инъекцию носителя (PBS+0,05% Tween 80), группа 2 - 0,21 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группа 3 - 0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, а группа 4 - 0,49 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, что обеспечивало эквимолярные дозы композиций. Все группы 1 - 4 получали четыре дополнительные дозы, которые вводили ежедневно с 1 по 4 сутки.

[00370] Опухоли измеряли дважды в неделю на протяжении 35 суток при помощи штангенциркуля в двух перпендикулярных измерениях и рассчитывали объем опухолей по формуле (ширина^2 X длина) / 2. Массу тела, внешний вид и клинические симптомы,

такие как судороги, тремор, вялость, гиперреактивность, пилоэрекция, затрудненное / учащенное дыхание, окраска и изъязвление опухоли и смерть, также тщательно контролировались как показатели токсичности, связанной с лечением. Конечную точку в исследовании определяли как объем опухоли 12002000 мм3 или выживаемость до 35 суток, в зависимости от того, что наступит раньше. Индекс ингибирования роста опухоли в процентах (%TGI) рассчитывали для каждой группы воздействия по формуле: ((средний объем опухоли в контрольной группе, получавшей PBS – средний объем опухоли в группе, получавшей лечение ProTIA)/средний объем опухоли в контрольной группе, получавшей PBS) x 100. Воздействие, при котором %TGI в группе был 60% или более, считалось терапевтически активным.

[00371] На 35 сутки в группе 1, в которой мыши получали только носитель в присутствии человеческих эффекторных клеток, прогрессирование опухоли не подавлялось, а средний объем опухоли в группе составил 1654 ± 87 мм^3, что показывало, что человеческие эффекторные клетки в отдельности не могут вызывать противоопухолевый эффект. Лечение обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,21 мг/кг (группа 2) в присутствии человеческих эффекторных клеток демонстрировало устойчивое подавление опухолевого роста; у 2/5 мышей наблюдалась полная регрессия опухоли, на 18 сутки опухоль не определялась. Однако, с 25 суток в данной группе рост опухоли возобновлялся и прогрессировал, в результате чего у всех 5 мышей на момент окончания исследования опухоли присутствовали, при этом средний объем опухоли на 35 сутки составлял 296 ± 33 мм^3. Важно отметить, что лечение интактной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в концентрации 0,5 мг/кг (группа 3) в присутствии человеческих эффекторных клеток также приводило к выраженному подавлению опухолевого роста. Фактически, у 4 из 5 мышей группы 3 наблюдалась полная регрессия опухоли к 18 суткам. При том, что у 2 мышей полная регрессия сохранялась до 35 суток, в данной группе на момент окончания исследования средний объем опухоли составлял 48 ± 67 мм^3. Важно отметить, что в группе 4, получавшей нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,49 мг/кг, прогрессирование опухоли не подавлялось так эффективно, как в группах 2 и 3, у 5 из 5 мышей в данной группе оставалась существенная опухолевая масса. В группе 4 на момент окончания исследования на 35 сутки средний объем опухоли составлял 748 ± 272 мм^3. И обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,21 мг/кг (группа 2) и интактную ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,5 мг/кг (группа 3) сочли

терапевтически активными, при этом показатель TGI составил 82% и 97%, соответственно. Нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с показателем TGI 55%, оказалась терапевтически неактивной. Как и ожидалось, средний объем опухоли в группе, получавшей интактную ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 достоверно отличался от такового в группе, получавшей нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (t-критерий Стьюдента, p=0,0016). Очевидно, что средний объем опухоли в группе, получавшей интактную ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, также значительно отличался от такового в группе, получавшей обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (p=0,002). Результаты позволяют предположить, что при дозе 0,5 мг/кг значительное количество ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 эффективно расщеплялось протеазами, присутствующими *in vivo* в опухолевом окружении HCT-16, до высокоактивной не несущей XTEN группировки анти-EpCAM x анти-CD3, приводя к заметной регрессии опухоли. Данная гипотеза в значительной степени подтверждается тем, что нерасщепляемая молекула ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, в которой отсутствует высвобождающий сегмент, была лишена свойства вызывать устойчивую регрессию опухоли (Фиг. 38). Важно отметить, что данные также свидетельствуют о том, что ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 оказывала лучшее терапевтическое воздействие, чем ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, обработанная протеазой, поэтому эффект регрессии опухоли был более устойчивым.

[00372] Следует отметить, что существенной потери массы тела не наблюдалось ни в одной из групп, получавших лечение ProTIA, а также в контрольной группе, получавшей носитель, что указывало, что все воздействия в целом хорошо переносились (Фиг. 39).

[00373] Пример 14. Исследование цитотоксичности, опосредованной стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 в присутствии выделенных CD3 положительных Т-клеток

[00374] Чтобы продемонстрировать, что цитотоксическая активность молекул ProTIA опосредована CD3 положительными Т-клетками, нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 без высвобождающего сегмента (AC1484) и обработанную и не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) дополнительно изучали на клетках яичников человека SK-OV-3 и OVCAR-3 в присутствии выделенных CD3 положительных Т-клеток человека. Выделенные CD3 положительные Т-клетки человека приобретали в BioreclamationIVT где их выделяли методом негативной селекции из цельной крови

здоровых доноров с применением набора для выделения человеческих CD3+ Т-клеток MagCellect. В этом эксперименте выделенные CD3 положительные Т-клетки человека смешивали с клетками яичника SK-OV-3 или OVAR-3 в соотношении 5:1 и три молекулы ProTIA исследовали в анализе на высвобождение LDH в серии 12 последовательных 5-кратных разведений. Как и ожидалось, профиль активности трех молекул ProTIA в отношении клеток SK-OV-3 был схож с профилем, наблюдавшимся в отношении SK-OV-3 в анализе с PBMC (Фиг. 30). Цитотоксичность CD3 положительных Т-клеток человека в отношении клеток яичника SK-OV-3, опосредованная необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, была в 56 раз меньше, чем опосредованная обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 134 пМ против 2,4 пМ), а опосредованная нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 была в более чем 1000 раз меньше чем в случае расщепленной протеазой ProTIA (EC_{50} 2660 пМ против 2,4 пМ) (Фиг. 40). Цитотоксичность CD3 положительных Т-клеток человека в отношении клеток яичника OVCAR-3, опосредованная необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, была только в 2 раза меньше, чем опосредованная обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 0,7 пМ против 0,3 пМ); а опосредованная нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 была в 287 раз меньше, чем в случае расщепленной протеазой ProTIA (EC_{50} 86 пМ против 0,3 пМ) (Фиг. 41). Результаты демонстрируют, что цитотоксичесая активность молекул ProTIA действительно опосредована CD3 положительныхми Т-клетками и что чувствительность высвобождающего сегмента, содержащегося в расщепляемой молекуле ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, к протеазам, предположительно высвобождаемым из опухолевых клеток и/или активированных CD3 положительных Т-клеток в аналитической смеси, отличается в зависимости от клеточных линий.

[00375] Пример 15. Анализ маркеров активации Т-клеток и высвобождения цитокинов в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00376] Для измерения экспрессии цитокинов, индуцированной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, 1 X 10^5 выделенных CD3+ клеток культивировали совместно с 2 X 10^4 SK-OV-3 клетками на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1) в присутствии ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. После инкубации в течение 20 ч при 37°C в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO_2, клеточный супернатант

собирали для определения цитокинов. Данное исследование также можно осуществлять с другими клетками-мишенями, выбранными из клеточных линий HCT-116, Kato III, MDA-MB-453, MCF-7, MKN45, MT3, NCI-N87, SK-Br-3, SW480, OVCAR3 и PC3, а также с PBMC вместо выделенных CD3+ клеток.

[00377] Количественное определение цитокинов интерлейкин (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10, фактор некроза опухоли (TNF)-альфа и интерферон (IFN)-гамма, секретированных в культуральную надосадочную жидкость, проводили с использованием мультиплексного анализа Human Th1/Th2 Cytokine (CBA) (BD Biosciences кат. номер 550749) согласно инструкциям производителя. Ожидалось, что в отсутствие ProTIA секреция цитокинов выделенными CD3+ клетками не будет превышать фоновую. Ожидалось, что ProTIA в присутствии EpCAM-положительных клеток-мишеней и выделенных CD3+ будет активировать Т-клетки и вызывать секрецию Т-клеточных цитокинов с высокой долей Th1 цитокинов, таких как IFN-гамма и TNF-альфа.

[00378] Как и ожидалось, ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 индуцировала устойчивую секрецию всех определявшихся цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа, IFN-гамма) (см. Фиг. 50-52). Стимуляция выделенных CD3+ клеток обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (обработанная MMP-9 AC1476) в присутствии клеток SK-OV-3 запускала существенную экспрессию всех исследованных цитокинов, особенно в концентрациях выше 20 пМ. Напротив, в присутствии интактной нерасщепленной молекулы ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) в диапазоне концентраций от 8 до 200 пМ (EC_{50} 4,3 нМ) выявляли фоновые уровни IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа и IFN-гамма. Кроме того, при использовании нерасщепляемой молекулы ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484) в диапазоне концентраций от 40 пМ до 1 нМ выявляли фоновые уровни всех исследованных цитокинов. Эти данные позволяют предположить, что полимер XTEN интактной композиции ProTIA обеспечивает значительный экранирующий эффект и препятствует цитокиновому ответу стимулированных CD3+ Т-клеток по сравнению с обработанной протеазой ProTIA, в которой группировка EpCAM x анти-CD3 высвобождается из композиции.

[00379] <u>Пример 16. Специфичность связывания CD3 стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3</u>

[00380] Поскольку ProTIA является биспецифической нацеленной композицией, связывающую способность композиции ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 также

оценивали по аффинности связывания с человеческим CD3. Это определяли методом сэндвич-ELISA с CD3ε & δ и конъюгированным с пероксидазой белком L. В данном ELISA рекомбинантный человеческий CD3 (rhCD3ε & δ) (Creative BioMart кат. номер CD3E&CD3D-219H) иммобилизовали на поверхности 96-луночного плоскодонного планшета в концентрации 0,025 мкг/100 мкл. После инкубации в течение ночи при 4°C планшет промывали и блокировали 3% бычьим сывороточным альбумином (BSA) в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшет промывали еще раз, после чего вносили ряд концентраций нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484), обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476). Диапазон концентраций всех трех вариантов ProTIA составлявший от 0,002 до 100 нМ, получали путем последовательных разведений 1:6, начиная от концентрации 100 нМ. Планшет промывали и инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы нерасщепляемая, расщепленная протеазой и не обработанная протеазой ProTIA связались с иммобилизованным на планшете rhCD3ε & δ. Несвязанные компоненты удаляли на стадии отмывания и добавляли конъюгированный с пероксидазой белок L (ThermoFisher Scientific кат. номер 32420) в концентрации 0,05 мкг/100 мкл. После соответствующего периода инкубации несвязанный реагент удаляли путем стадии отмывки, после чего в каждую лунку добавляли субстрат тетраметилбензидин (TMB). После достижения необходимой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при 450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации нерасщепляемой, обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, выявленных в сэндвич ELISA с rhCD3ε & δ и белком L. Строили зависимость интенсивности развившейся окраски (измеренной OD) от концентрации белка и определяли концентрацию нерасщепляемой, расщепленной протеазой и нерасщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, вызывающую ответ, равный половине максимального (EC_{50}) при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism.

[00381] Результаты: Как показано на Фиг. 53, не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 имела связывающую активность, схожую с нерасщепляемой биспецифической молекулой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, каждая из которых демонстрировала EC_{50} 1800 пМ и 2200 пМ, соответственно. Обработанная протеазой

ProTIA обладала наиболее сильной связывающей активностью с EC_{50} 310 пМ в отношении лиганда rhCD3ε & δ по сравнению с интактной не обработанной протеазой биспецифической молекулой или нерасщепляемой молекулой ProTIA. Поскольку блокирующая группировка XTEN864 расположена непосредственно после группировки анти-CD3scFv, XTEN864 является препятствием для связывания нерасщепленной группировки анти-CD3 с его лигандом приблизительно в 5,8 раз по сравнению с расщепленной и высвобожденной группировкой анти-CD3scFv ProTIA, связывающейся с лигандом CD3.

[00382] Пример 17. Специфичность связывания стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00383] Специфичность связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) оценивали в сочетании с контрольными композициями ProTIA анти-CEA x анти-CD3 ProTIA (AC1432) и анти-HER2 x анти-CD3 ProTIA (AC1408), в сэндвич ELISA с маркером клетки-мишени и конъюгированным с биотином белком L. И анти-CEA x анти-CD3 ProTIA (AC1432), и анти-HER2 x анти-CD3 ProTIA (AC1408) несут один и тот же компонент анти-CD3 scFv, как и ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476), но с разными нацеливающими компонентами. В анализе связывания ELISA рекомбинантный человеческий EpCAM (rhEpCAM) (R&D Systems кат. номер 960-EP-50), рекомбинантный человеческий CEA (Abcam кат. номер ab742) и рекомбинантный человеческий HER2 (AcroBiosystems, кат. номер HE2-H525) иммобилизовали на поверхности 96-луночного плоскодонного планшета в концентрации 0,1 мкг/100 мкл. После инкубации в течение ночи при 4°C планшет промывали и блокировали 3% бычьим сывороточным альбумином (BSA) в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшет вновь промывали, после чего добавляли обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) в диапазоне концентраций (от 0,0007 до 0,5 нМ, которые получали путем серии разведений 1:3, начиная от концентрации 0,5 нМ) в лунки, покрытые EpCAM, CEA и HER2. В лунки, покрытые CEA, вводили обработанную протеазой анти-CEA x анти-CD3 ProTIA (AC1432) в таком же диапазоне концентраций, а в лунки, покрытые HER2, вводили обработанную протеазой анти-HER2 x анти-CD3 ProTIA (AC1408) в таком же диапазоне концентраций, служившие контролем. Планшет оставляли инкубироваться при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы различные расщепленные протеазой ProTIA связались с соответствующим антигеном, нанесенным на планшет. Несвязанные

компоненты удаляли на стадии отмывания и добавляли конъюгированный с биотином белок L (ThermoFisher Scientific, кат. номер 29997) в концентрации 0,05 мкг/100 мкл. После соответствующего периода инкубации несвязанный реагент удаляли путем стадии отмывки, после чего в каждую лунку добавляли субстрат тетраметилбензидин (TMB). После достижения необходимой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при 450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации соответствующей обработанной протеазой ProTIA, захваченной соответствующим антигеном, иммобилизованным на поверхности планшета. Строили зависимость интенсивности развившейся окраски (измеренной OD) от концентрации ProTIA и анализировали при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism.

[00384] Результаты: Как показано на Фиг. 54 (и сопоставимо с результатами, показанными на Фиг. 24), обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 дозозависимо связывается с нанесенным на планшет rhEpCAM с EC_{50} 110 пМ. Аналогично, обработанная протеазой анти-CEA x анти-CD3 ProTIA дозозависимо связывается с антигеном CEA, нанесенным на планшет, с EC_{50} 70 пМ; а обработанная протеазой анти-HER2 x анти-CD3 ProTIA связывается с антигеном HER2, нанесенным на планшет, с EC_{50} 47 пМ. Важно отметить, что дозозависимого связывания обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с антигенами CEA и HER2, нанесенными на планшет, не наблюдалось, что указывает, что обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 специфически связывается с антигеном EpCAM, но не с CEA или HER2. Таким образом, композиции демонстрировали специфическое связывание с их лигандами и не демонстрировали неспецифического связывания.

[00385] <u>Пример 18. Противоопухолевые свойства интактной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 при раннем лечении на модели SW480</u>

[00386] Чувствительность высвобождающего сегмента (RS), встроенного в молекулу ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476), к протеазам в опухолевом окружении также оценивали *in vivo* наряду с нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1484), обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (AC1476) на модели ксенотрансплантата SW480/PBMC, инокулированного мышам

NOD/SCID. Как и в исследовании, описанном в Примерах 10 и 13, через час после инокуляции SW480/PBMC (обозначенного как сутки 0), мыши группы 1 получали инъекцию носителя (PBS_0,05% Tween 80), группа 2 - 0,21 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группа 3 - 0,5 мг/кг интактной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, а группа 4 - 0,49 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Кроме того, все группы (т.е. от 1 до 4) получали четыре дополнительные дозы, которые вводили ежедневно с 1 по 4 сутки. Объем опухоли, массу тела и клинические симптомы отслеживали два раза в неделю в течение 35 суток.

[00387] Как показано на Фиг. 55, обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,21 мг/кг (группа 2), интактная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,5 мг/кг (группа 3) и нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в дозе 0,49 мг/кг (группа 4) оказались терапевтически активными, при этом индекс ингибирования опухолевого роста (%TGI) составлял 93%, 95% и 80%, соответственно. Таким образом, в эквимолярных дозах интактная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 эффективно расщепляется протеазами, которыми обогащена опухоль, до высокоактивной высвобождаемой анти-EpCAM x анти-CD3 (не связанной с группировкой XTEN) и демонстрирует эквивалентную эффективность в отношении регрессии опухоли, как и обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Как и ожидалось, несмотря на эффективность при ингибировании прогрессирования опухоли, нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 менее эффективна, чем интактная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, что указывает, что присутствие высвобождающего сегмента улучшало терапевтическую эффективность композиции, позволяя высвобождаться анти-EpCAM x анти-CD3 связывающим доменам.

[00388] Как показано на Фиг. 56, в группах 2 и 3 на модели ксенотрансплантата SW480 наблюдалась некоторая потеря массы тела, что предполагает некоторую возможную токсичность. Дополнительные эксперименты для оценки минимальной эффективной дозы, меньшего количества введений, а также оценка на модели развившейся опухоли позволят прояснить это первоначальное наблюдение.

[00389] Пример 19. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели с клетками яичника OVCAR-3.

[00390] Эффективность ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 *in vivo* также оценивали с использованием линии клеток яичников человека OVCAR-3, которые имплантировали

внутрибрюшинно мышам с тяжелым иммунодефицитом NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ) или NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rg^{null}). Мыши NOG и NSG характеризуются дефицитом Т-, В- и NK-клеток, а также нарушением функции макрофагов, дендритных клеток и системы комплемента. Вкратце, в сутки 0 семи группам мышей NOG или NSG по 5 мышей на группу имплантировали внутрибрюшинно 5-10 X 10^6 клеток OVCAR-3, после чего внутривенно вводили 5-10 X 10^6 PBMC в сутки 14. В сутки 16 начинали лечение, где группе 1 ежедневно вводили носитель (PBS+0,05% Tween 80), всего 5 доз (qdx5), группе 2 - 0,21 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qdx5, группе 3 - 1,05 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 один раз в неделю (qw), группе 4 - 0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qdx5, группе 5 - 2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qw, группе 6 - 0,49 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qdx5 и группе 7 - 2,45 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qw. Все группы получали еще один цикл лечения в течение следующей недели. У мышей ежедневно регистрировали поведение и выживаемость, и дважды в неделю – массу тела и увеличение размеров брюшной полости. Кровь брали в сутки 30, сутки 40, сутки 50 и сутки 60 для определения CA125 как признака развития опухоли. Когда масса тела животных увеличивалась на 30% по сравнению с сутками 0, животных считали достигшими конечной точки исследования, подвергали эвтаназии и проводили аутопсию.

[00391] Рост опухоли OVCAR-3 подтверждался развитием внутрибрюшинного асцита, который регистрировали по увеличению массы тела, диаметра живота и увеличению уровней CA125 в циркуляции. Ожидалось, что и расщепленная протеазой, и не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715) будет приводить к увеличению выживаемости и отсутствию или замедлению образования асцита. Также ожидалось, что не обработанная протеазой ProTIA будет оказывать лучшее терапевтическое воздействие и более эффективное противоопухолевое действие и будет демонстрировать лучший профиль безопасности, чем обработанная протеазой ProTIA. Ожидалось, что нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 также будет замедлять опухолевый рост, но в гораздо меньшей степени, чем демонстрировали несущие высвобождающий сегмент не обработанная протеазой и обработанная протеазой ProTIA.

[00392] Пример 20. Фармакокинетические свойства стимулированной протеазой иммуно-

активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели клеток яичника OVCAR-3

[00393] Оценивали фармакокинетику и профиль биораспределения расщепленной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в виде смеси молекул, независимо меченных металлами, у мышей BALB/c nude, несущих опухоли OVCAR-3. Каждой облученной мыши BALB/c nude вводили внутрибрюшинно десять миллионов клеток OVCAR-3 в сутки 0. Лечение начинали, когда становилось заметным увеличение размеров брюшной полости и/или когда масса тела животного увеличивалась на 10-15% по сравнению с сутками 0. Из двадцати мышей, несущих опухоли OVCAR-3 отбирали 18 и рандомизировали в зависимости от их массы тела в 2 группы по 9 животных на группу. Одна группа из 9 мышей получала внутривенную инъекцию 1,5 мг/кг смеси, содержащей эквимолярные концентрации меченной металлом 1 расщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, меченной металлом 2 не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченной металлом 3 нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Другой группе из 9 животных вводили внутрибрюшинно 1,5 мг/кг той же смеси ProTIA.

[00394] Кровь собирали путем пункции яремной/нижне-челюстной вены, путем чередования между животными одной группы (т.е. групп, получавших внутривенную и внутрибрюшинную инъекцию), в пробирки с литиевой солью гепарина через 0,5 ч, 4 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч, на 3 сутки, 5 сутки и 7 сутки после введения исследуемого образца. Из крови получали плазму путем центрифугирования при 1300 g в течение 10 минут при 4°C и хранили при -80°C до анализа.

[00395] Асцит собирали у групп, получавших внутривенное и внутрибрюшинное введение через 4 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч, 3 суток, 5 суток и 7 суток после введения исследуемого образца, путем чередования между животными одной группы. Образцы асцита немедленно центрифугировали при 300 g в течение 10 минут при 4°C и замораживали жидкую часть при -80°C до анализа.

[00396] Три мыши из каждой группы подвергали эвтаназии на 3 сутки, 5 сутки и 7 сутки. Забирали органы (головной мозг, сердце, печень, легкие, селезенку и поджелудочную железу) и опухолевые узлы из брюшной полости, взвешивали, быстро замораживали и хранили при -80°C до анализа.

[00397] Все образцы (кровь, асцит, нормальные органы и опухолевые ткани)

анализировали при помощи ICP-MS (масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой). Ожидалось, что в группе, получавшей внутривенное введение, все 3 ProTIA будут определяться в асците в низком количестве. Ожидается, что плазме меченная металлом 2 не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченная металлом 3 нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 будут демонстрировать больший период полувыведения в системном кровотоке, чем меченная металлом 1 расщепленная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Ожидается, что в группе, получавшей внутрибрюшинную инъекцию, все варианты 3 ProTIA будут определяться в асците. Из-за наличия опухоли во внутрибрюшинном пространстве неизвестно, будут ли меченная металлом 2 не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченная металлом 3 нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 иметь большее время удерживания в брюшной полости по сравнению с меченной металлом 1 расщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Ожидается, что все 3 варианта ProTIA будут определяться в плазме отсроченно и в более низкой концентрации по сравнению с внутривенным введением. Ожидается, что все 3 варианта ProTIA будут присутствовать в более высокой концентрации в опухолевых узлах, выделенных из брюшной полости, но в минимальной концентрации или отсутствовать в здоровых органах.

[00398] Пример 21. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели с клетками яичника SK-OV-3

[00399] Эффективность ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 *in vivo* также оценивали с использованием клеток яичника человека линии SK-OV-3, которые имплантировали внутрибрюшинно мышам с тяжелым иммунодефицитом NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ) или NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rg^{null}). Мыши NOG и NSG характеризуются дефицитом T-, B- и NK-клеток, а также нарушением функции макрофагов, дендритных клеток и системы комплемента. Вкратце, в сутки 0 семи группам мышей 5 NOG или NSG по 5 мышей на группу имплантировали внутрибрюшинно 5-10 X 10^6 клеток SK-OV-3, после чего вводили внутрибрюшинно 5-10 X 10^6 PBMC в сутки 5. В сутки 7 начинали лечение, вводя группе 1 носитель (PBS+0,05% Tween 80) ежедневно в количестве 5 доз (qdx5), группе 2 - 0,21 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qdx5, группе 3 - 1,05 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-

EpCAM x анти-CD3 один раз в неделю (qw), группе 4 - 0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qdx5, группе 5 - 2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qw, группе 6 - 0,49 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qdx5 и группе 7 - 2,45 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 qw. У мышей ежедневно регистрировали поведение и выживаемость, и дважды в неделю – массу тела и увеличение размеров брюшной полости. Когда масса тела животных увеличивалась на 30% по сравнению с сутками 0, животных считали достигшими конечной точки исследования, подвергали эвтаназии и проводили аутопсию.

[00400] Рост SK-OV-3 подтверждался развитием внутрибрюшинного асцита, который регистрировали по увеличению массы тела и увеличению диаметра живота. Ожидалось, что и расщепленная протеазой, и не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715) приведут к увеличению выживаемости и отсутствию или задержке образования асцита. Также ожидалось, что не обработанная протеазой ProTIA будет обеспечивать лучшее терапевтическое воздействие, более эффективный противоопухолевый эффект и лучший профиль безопасности, чем обработанная протеазой ProTIA. Также ожидается, что нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 будет тормозить опухолевый рост, но в гораздо меньшей степени, чем несущие высвобождающий сегмент не обработанная протеазой ProTIA и обработанная протеазой ProTIA.

[00401] Пример 22. Эффективность стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 в образцах злокачественного асцита человека.

[00402] Злокачественный асцит человека собирали у пациентов с первичными внутрибрюшинными EpCAM положительными злокачественными новообразованиями эпителиального происхождения, включавшими распространенные, рецидивирующие и рефрактерные новообразования яичников (аденокарциному и слизеобразующие опухоли), колоректальный рак, рак желудка, желчевыводящих путей/холангиокарциному, рак фатерова соска, поджелудочной железы и несветлоклеточный почечно-клеточный рак, но не ограничивались ими. Пациентов, получавших химиотерапию, иммунную терапию, биологическую и/или кортикостероидную терапию на протяжении последних 30 суток до взятия образца, исключали. Злокачественные асциты центрифугировали при 300-400 g в

течение 10 мин при комнатной температуре и собирали жидкий компонент и осадок. Концентрацию протеаз человека, включая MMP-9, MMP-2, матриптазу и uPA в жидком компоненте определяли с применением имеющихся в продаже наборов ELISA (MMP-9 человека, Invitrogen кат. номер KHC3061 или эквивалент; MMP-2 человека, Invitrogen кат. номер KHC3081 или эквивалент; матриптаза человека, Enzo кат. номер ADI-900-221 и uPA человека, Abcam кат. номер 119611) согласно инструкциям производителя. Скорость расщепления интактной анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714, и AC1715) протеазами, обнаруживающимися в асците, определяли путем добавления известных концентраций ProTIA в жидкий компонент асцита и инкубации смеси при 37°C, отбирали аликвоту в моменты времени 0,5 ч, 2 ч, 4 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч, 3 сутки, 4 сутки, 5 сутки и 7 сутки. Количество интактной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, присутствующей в соответствующие моменты времени, затем определяли с применением сэндвич ELISA с rhEpCAM и биотинилированным антителом к XTEN с интактной анти-EpCAM x анти-CD3 в качестве стандарта.

[00403] Вкратце, на поверхности планшета ELISA (Nunc Maxisorp кат. номер 442404) иммобилизовали 0,1 мкг/100 мкл на лунку rhEpCAM (R&D Systems, кат. номер EHH104111). После инкубации в течение ночи при 4°C, планшет ELISA отмывали и блокировали 3% BSA в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет опять промывали, после чего в качестве стандарта добавляли интактную не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в соответствующем диапазоне концентраций, соответствующие контроли качества и исследуемые образцы асцита с добавленной ProTIA. Планшет инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы стандарты ProTIA, контроли качества и исследуемые образцы связались с иммобилизованным на планшете rhEpCAM. Несвязанные компоненты удаляли в ходе нескольких промываний. Добавляли биотинилированное антитело к XTEN (запатентованное антитело) по 0,1 мкг/100 мкл и оставляли планшет инкубироваться при комнатной температуре в течение 1 ч. После отмывания несвязавшегося биотинилированного реагента добавляли конъюгированный с HRP стрептавидин (ThermoFisher Scientific кат. номер 21130) в разведении 1:30 000 и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 1 ч. После нескольких отмывок в каждую лунку добавляли субстрат TMB. При достижении желаемой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при

450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации интактной ProTIA, выявленной при помощи сэндвич ELISA с rhEpCAM и биотинилированным антителом к XTEN. Концентрацию интактной ProTIA, присутствующей в исследуемых образцах асцита, определяли по стандартной кривой интактной ProTIA с использованием программы SoftMax Pro. Скорость уменьшения количества интактной ProTIA, выявленную в сэндвич ELISA с rhEpCAM и биотинилированным антителом к XTEN (т.е. период полувыведения) определяли с помощью GraphPad Prism. Предполагается, что различия в высвобождающих сегментах, вероятно, будут играть роль в скорости метаболизма не обработанных протеазой ProTIA.

[00404] В осадке из асцита определяли экспрессию EpCAM, CD3, CD4, CD8, CA125 и CD56. Образцы злокачественного асцита, оказавшиеся положительными по EpCAM и CD3 использовали для анализа цитотоксичности обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA. Вкратце, $1X10^5$ клеток асцита разводили в соответствующем количестве асцитной жидкости и оставляли на 24 ч в 24-луночном планшете для адгезии. Клетки подвергали воздействию различных концентраций обработанной протеазой и интактной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в течение 48 ч, после чего проводили количественное определение каспазы 3/7 с применением люминогенного субстрата для каспазы 3/7 согласно инструкциям производителя (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Поскольку люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы-3/7, концентрации обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и интенсивность люминесцентного сигнала откладывали на графике и определяли концентрацию белка, вызывавшую ответ, равный половине максимального (EC_{50}) при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism. Ожидалось, что злокачественный человеческий асцит, полученный у пациентов с распространенным, рецидивирующим и рефрактерным EpCAM раком будет содержать все компоненты, необходимые для расщепления и последующей активации интактной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 до не содержащей XTEN группировки анти-EpCAM x анти-CD3, проявляющей выраженную цитотоксическую активность. Также ожидалось снижение количества EpCAM положительных клеток, как признак элиминации опухоли, и увеличение маркеров активации Т-клеток, таких как CD69 и гранзимы, отражающее активацию Т-клеток.

[00405] Пример 23. Анализ каспазы 3/7 в присутствии стимулированной протеазой

иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00406] Перенаправленную клеточную цитотоксичность композиций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 также оценивали по активности каспазы 3/7 апоптотических клеток. Аналогично определению цитотоксичности по высвобождению LDH, как описано выше, PBMC или выделенные CD3 положительные Т-клетки смешивали с EpCAM положительными опухолевыми клетками, такими как клетки SW480, SK-OV-3 и OVAR-3 в соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1, HCT-116 в соотношении 10:1; и все три варианта ProTIA тестировали в 12 концентрациях, полученных в серии 5-кратных разведений, как в анализе LDH, описанном выше.

[00407] Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость после лизиса клеток каспазу 3/7 измеряли по количеству люминогенного субстрата каспазы 3/7, расщепленного каспазой 3/7 с испусканием люминесцентного сигнала типа «свечения» (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы.

[00408] Как и ожидалось, профиль активности обработанной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в отношении опухолевых клеточных линий SK-OV-3, OVCAR-3, HCT-116 и SW480 согласовывался с активностью, наблюдавшейся в анализе LDH. При цитолизе клеток яичника SK-OV-3 под воздействием PBMC человека необработанная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 была в 12 раз менее активной, чем обработанная протеазой ProTIA (EC_{50} 140 пМ против 12 пМ); а нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в 390 раз менее активной по сравнению с обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 4700 пМ против 12 пМ) (Фиг. 57). При цитолизе клеток яичника SK-OV-3 под воздействием PBMC человека нерасщепленная ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 была в 4 раз менее активной, чем обработанная протеазой ProTIA (EC_{50} 9,8 пМ против 2,5 пМ); а нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в 420 раз менее активной по сравнению с обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 1043 пМ против 2,5 пМ) (Фиг. 58). При цитолизе клеток прямой кишки HCT-116 под воздействием PBMC человека обработанная протеазой и интактная не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 имели практически схожую активность (EC_{50} 1,8 пМ против 3,6 пМ); а нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в 130 раз менее активной по сравнению с обработанной протеазой ProTIA (EC_{50} 240 пМ против 1,8 пМ) (Фиг. 59). При цитолизе клеток прямой кишки SW480 под воздействием PBMC человека обработанная

протеазой и нерасщепленная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 имели практически схожую активность (EC_{50} 2 пМ против 1 пМ); а нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в 70 раз менее активной по сравнению с расщепленной протеазой ProTIA (EC_{50} 148 пМ против 2 пМ) (Фиг. 60). Результаты свидетельствуют, что нерасщепляемая ProTIA была стабильно менее активной по сравнению с не имеющей XTEN группировкой анти-EpCAM x анти-CD3. В зависимости от используемой клеточной линии активность интактной, не обработанной протеазой ProTIA варьировала от схожей до в 12 раз более низкой по сравнению с расщепленной протеазой ProTIA, что позволяло предположить различие в степени чувствительности высвобождающего сегмента протеазам, которые, как полагают, высвобождаются опухолевыми клетками и/или активированными CD3 положительными Т-клетками в исследуемой смеси.

[00409] Пример 24. Протеолитическое расщепление AC1476 aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6) с применением различных протеаз

[00410] Эксперимент проводили, чтобы продемонстрировать, что aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6) AC1476, ранее описанная в Примере 3, может быть расщеплена *in vitro* множеством опухолеассоциированных протеаз, включая MMP-2, MMP-9 и эластазу нейтрофилов.

[00411] 1. Активация ферментов

[00412] Все ферменты приобретали в компании R&D Systems. Рекомбинантная эластаза нейтрофилов и рекомбинантная матриптаза человека находились в форме активных ферментов и хранились при -80°C до применения. Рекомбинантная MMP-2 мыши и рекомбинантная MMP-9 мыши находились в форме зимогенов и требовали активации при помощи ацетата 4-аминофенилртути (APMA). APMA сначала растворяли в 0,1 M NaOH до конечной концентрации 10 мМ, после чего pH доводили до нейтрального при помощи 0,1N HCl. Дальнейшее разведение матричного раствора APMA до 2,5 мМ производили при помощи 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl, 10 мМ $CaCl_2$, pH 7,5. Для активации pro-MMP инкубировали 1 мМ APMA и 100 мкг/мл pro-MMP при 37°C в течение 1 ч (MMP-2) или 3 ч (MMP-9). К активированным ферментам добавляли глицерин до конечной концентрации 50% и затем хранили при -20°C.

[00413] 2. Ферментативное расщепление

[00414] Для расщепления композиции AC1476 aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6) ProTIA использовали панель ферментов. 10 мкМ композиции субстрата

инкубировали отдельно с каждым ферментом в следующих молярных соотношениях фермента к субстрату: MMP-2 (1:200), MMP-9 (1: 2000), матриптаза (1:12.5) и эластаза нейтрофилов (1:1000). Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 2 ч и затем останавливали расщепление при помощи красителя для загрузки в гель и нагревания до 80°C.

[00415] 3. Анализ расщепления

[00416] Образцы анализировали, загружая 5 мкг нерасщепленного и расщепленного материала в полиакриламидный гель и электрофоретического разделения в присутствии SDS с последующим окрашиванием Кумасси. После обработки каждой протеазой высвобождающего сегмента BSRS-1 образовывалось два фрагмента, выявляемых в геле SDS-PAGE, при этом малый фрагмент содержал aEpCAM-aCD3 (активированную первую часть со связывающим доменом), а другой содержал высвобожденный XTEN, который мигрировал в геле SDS-PAGE с несколько меньшей кажущейся молекулярной массой, чем интактная форма. В случае эластазы нейтрофилов, которая также расщепляет высвобождаемый XTEN, активированная форма наблюдалась в геле наряду с другими более мелкими фрагментами, последние обусловлены расщеплением XTEN в различных положениях последовательности. Результаты подтверждают, что все протестированные протеазы расщепляли конструкцию, как и ожидалось, с высвобождением связывающих доменов.

[00417] Пример 25. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели развившейся колоректальной опухоли

[00418] На модели развившейся колоректальной опухоли опухолевые клетки HCT-116 имплантировали независимо мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rg^{null}) в сутки 0. (Мыши NOG представляют собой мышей NOD/SCID, несущих мутацию IL-2Rg, приводящую к отсутствию у мышей T-, B- и NK-клеток, нарушению функций макрофагов, дендритных клеток и пониженной активности комплемента.) Затем на 4 сутки внутривенно вводили PBMC человека. Когда опухоли HCT-116 достигали объема 100-150 мм^3, начинали лечение ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 три раза в неделю на протяжении 4 недель в эквимолярных концентрациях 21,6 нмоль/кг. Это эквивалентно 1,26 мг/кг расщепленной протеазой и 3,0 мг/кг не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3.

[00419] И расщепленная протеазой, и не обработанная протеазой ProTIA (например, AC1476) приводили к существенному уменьшению развившихся опухолей HCT-116 по сравнению с получавшей носитель контрольной группой (p = 0,004 и p = 0,001, соответственно). Нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1484), как ожидалось, не замедляла рост опухоли, поскольку она не содержит последовательности, являющейся субстратом для расщепления протеазой в опухолевом окружении (p = 0,198) (Фиг. 61).

[00420] Пример 26. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели с клетками яичника OVCAR-3.

[00421] Эффективность ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 *in vivo* также оценивали с использованием клеток яичника человека линии OVCAR-3, резистентных к платине, которые имплантировали внутрибрюшинно мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rg^{null}) с тяжелым иммунодефицитом. Мыши NOG отличаются дефицитом T-, B- и NK-клеток, а также дисфункцией макрофагов, дендритных клеток и системы комплемента. В сутки 0, восьми группам мышей (группы 1-7 по 6 мышей NOG на группу; и группа 9 с 8 мышами NOG) имплантировали внутрибрюшинно 10 X 10^6 OVCAR-3 клеток. Группа 8, включавшая 5 мышей NOG, не получала инокуляцию клеток OVCAR-3 в сутки 0. Когда прогрессирование опухолевых клеток становилось заметным, что проявлялось в увеличении уровня CA125 человека по сравнению с исходным (ниже порога определения) до 300-400 Ед/мл в сутки 20, 10 X 10^6 PBMC вводили внутрибрюшинно группам 1-8. Группа 9 не получала PBMC. Лечение начинали в сутки инокуляции PBMC, при этом группам 1, 8 и 9 вводили носитель (PBS+0,05% Tween 80), группе 2 - 0,21 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 3 - 1,05 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 4 - 0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 5 - 2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 6 - 0,49 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, а группе 7 - 2,46 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Все группы получали лечение дважды в неделю в течение 4 недель. Поведение и выживаемость мышей контролировали ежедневно, а массу тела и увеличение размеров брюшной полости - дважды в неделю. Кровь собирали в сутки 28, сутки 42 и сутки 48 для определения CA125 как признака опухолевого развития.

[00422] Рост опухоли OVCAR-3 наиболее четко проявлялся увеличением уровней CA125 человека в циркуляции. Как показано на Фиг. 62, уровень CA125 в группе 1 (OVCAR3 + PBMC) увеличивался с 378 ± 187 Ед/мл в сутки 20 до 6506 ± 7911 Ед/мл в сутки 48; а в группе 9 (только OVCAR-3) от 379 ± 111 Ед/мл в сутки 20 до 1072 ± 236 Ед/мл в сутки 48. В группе 8, получавшей только PBMC без клеток OVCAR-3, уровень CA125 сохранялся ниже порога определения на протяжении всего исследования.

[00423] Как и ожидалось, и расщепленная протеазой, и не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1476) вызывали снижение уровня CA125 в циркуляции с течением времени. Это было показано для обеих дозировок. Как показано на Фиг. 63 (низкая доза) и на Фиг. 64 (высокая доза), уровень CA125 в группе 2 (0,21 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3) снижался с 352 ± 132 Ед/мл в сутки 20 до 20,4 ± 39 Ед/мл в сутки 48; в группе 3 (1,05 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3) снижался с 354 ± 125 Ед/мл в сутки 20 до 50 ± 103 Ед/мл в сутки 48; в группе 4 (0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3) снижался с 351 ± 126 Ед/мл в сутки 20 до 96 ± 45 Ед/мл в сутки 48; и в группе 5 (2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3) снижался с 348 ± 120 Ед/мл в сутки 20 до 7 ± 10 Ед/мл в сутки 48.

[00424] Группы, получавшие нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, демонстрировали повышение уровней CA125 с течением времени. В группе 6 (0,49 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3) наблюдалось увеличение CA125 от 344 ± 118 Ед/мл в сутки 20 до 3426 ± 4170 Ед/мл в сутки 48; а в группе 7 (2,46 мг/кг нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3) наблюдалось увеличение CA125 от 351 ± 113 Ед/мл в сутки 20 до 1905 ± 2534 Ед/мл в сутки 48.

[00425] Пример 27. Сравнение противоопухолевых свойств стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели с клетками яичника OVCAR-3 со стандартом терапии

[00426] Эффективность *in vivo* не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (оставшейся интактной ProTIA), вводимой внутривенно по сравнению с внутривенным введением, а также в сравнении с бевацизумабом оценивали с использованием клеток яичника человека линии OVCAR-3, резистентных к платине, которые имплантировали внутрибрюшинно мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rg^{null}) с тяжелым иммунодефицитом. Мыши NOG отличаются дефицитом T-, B- и NK-клеток, а

также дисфункцией макрофагов, дендритных клеток и системы комплемента. В сутки 0 восьми группам по 6 мышей NOG на группу (группы 1-7 и группа 9) имплантировали внутрибрюшинно 10 X 10^6 клеток OVCAR-3. Группа 8, включавшая 6 мышей NOG, не получала инокуляцию OVCAR-3 в сутки 0. Когда отмечалось прогрессирование опухолевых клеток, проявлявшееся в увеличении уровня CA125 человека от исходного (ниже порога определения) до приблизительно 650 Ед/мл в сутки 21, группам 1-8 внутривенно вводили 10×10^6 PBMC. Группа 9 не получала PBMC. Лечение начинали в сутки инокуляции PBMC, при этом группам 1, 8 и 9 внутривенно вводили носитель (PBS+0,05% Tween 80), группе 2 внутрибрюшинно вводили 0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 3 внутрибрюшинно вводили 2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 4 внутривенно вводили 0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 5 внутривенно вводили 2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, группе 6 внутривенно вводили 2 мг/кг бевацизумаба, а группе 7 внутривенно вводили 5 мг/кг бевацизумаба. Все группы получали лечение дважды в неделю в течение 4 недель. Поведение и выживаемость мышей контролировали ежедневно, а массу тела и увеличение размеров брюшной полости - дважды в неделю. Кровь брали в сутки 27, в сутки 34, в сутки 41, в сутки 48 и подвергали эвтаназии для определения CA125, как признака развития опухоли.

[00427] Рост опухоли OVCAR-3 наиболее четко проявлялся увеличением уровней CA125 человека в циркуляции. Уровень CA125 в группе 1 (OVCAR3 + PBMC) повышался с 682 ± 259 Ед/мл в сутки 21 до 1727 ± 749 Ед/мл при эвтаназии; а в группе 9 (только OVCAR-3) с 671 ± 212 Ед/мл в сутки 21 до 3554 ± 2908 Ед/мл при эвтаназии. В группе 8, получавшей только PBMC без клеток OVCAR-3, уровень CA125 сохранялся ниже порога определения на протяжении всего исследования.

[00428] Как свидетельствовали показатели CA125, не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1476), которую вводили внутривенно, была эффективна при внутрибрюшинном введении (Фиг. 65). Уровень CA125 в группе 2 (0,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IP) увеличивался незначительно от 679 ± 242 Ед/мл в сутки 21 до 891 ± 897 Ед/мл при эвтаназии; в группе 3 (2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IP) снижался от 677 ± 241 Ед/мл в сутки 21 до 228 ± 269 Ед/мл при эвтаназии; в группе 4 (0,5 мг/кг не

обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IV) оставался относительно неизменным, составляя 661 ± 216 Ед/мл в сутки 21 и 661 ± 861 Ед/мл при эвтаназии; а в группе 5 (2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IV) снижался от 658 ± 200 Ед/мл в сутки 21 до 180 ± 348 Ед/мл при эвтаназии.

[00429] При контроле по общему объему опухоли при эвтаназии не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 при внутривенном введении превосходила вводимую внутрибрюшинным путем у всех животных, особенно в группах, получавших более высокие дозы. Общий объем опухоли при эвтаназии у животных в группе 3 (2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IP) составлял 2600 мм^3; а в группе 5 - 460 мм^3 5 (2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IV) (Фиг. 66).

[00430] При контроле по общему объему опухоли при эвтаназии вводимая внутривенно в дозе 2,5 мг/кг не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (группа 5) у всех животных превосходила бевацизумаб, вводимый по 2 мг/кг и 5 мг/кг, поскольку общий объем опухоли был меньше. Общий объем опухоли при эвтаназии у всех животных в группе 5 (2,5 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, IV) составлял 460 мм^3 по сравнению с 2900 мм3 в группе 6 (2 мг/кг бевацизумаб, IV) и 4630 мм^3 в группе 7 (5 мг/кг бевацизумаб, IV) (Фиг. 67).

[00431] Пример 28. Анализ связывания CD3 стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00432] Связывающую способность композиции ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 проверяли в сэндвич ELISA с CD3эпсилон-дельта и антителом к XTEN. В анализе связывания ELISA рекомбинантный человеческий CD3 (rhCD3) (Creative Biomart кат. номер CD3E&CD3D-219H) иммобилизовали на поверхности 96-луночного плоскодонного планшета в концентрации 0,25 мкг/100 мкл. После инкубации в течение ночи при 4°C планшет промывали и блокировали 3% бычьим сывороточным альбумином (BSA) в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшет вновь промывали, после чего вводили нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (т.е. ProTIA без расщепляемой последовательности высвобождающего сегмента и AC1484, композицию химерного полипептида ProTIA) и не обработанную протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714, AC1715) в диапазоне концентраций. Диапазон концентраций, использованный для нерасщепляемой и не

обработанной протеазой ProTIA, составлял от 3600 до 0,077 нг/мл, что достигалось последовательными разведениями 1:6, начиная от концентрации 3600 нг/мл. Планшет инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы нерасщепляемая, нерасщепленная протеазой ProTIA связались с иммобилизованными на поверхности планшета rhCD3ε & δ. Несвязанные компоненты удаляли на стадии отмывания и добавляли биотинилированное моноклональное антитело против XTEN собственного приготовления. После соответствующего периода инкубации, в течение которого антитело к XTEN связывалось с полипептидом XTEN на ProTIA, все несвязанные реагенты удаляли на стадии отмывания, после чего в каждую лунку добавляли субстрат тетраметилбензидин (TMB). TMB является хромогенным субстратом пероксидазы. После достижения необходимой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при 450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность краски пропорциональна концентрации нерасщепляемой, не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, захваченной в сэндвич ELISA с применением rhCD3ε & δ и антитела к XTEN. Строили зависимость интенсивности полученной окраски (измеренную OD) от концентрации белка и определяли концентрацию нерасщепляемой и нерасщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, которая вызывала ответ, равный половине максимального (EC_{50}) при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism.

[00433] Как показано на Фиг. 68, все не обработанные протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, за исключением AC1693, обладали связывающей активностью, схожей с таковой нерасщепляемой молекулы биспецифической ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 AC1484 (EC_{50} 27 нг/мл). Значение EC_{50} AC1684 составляло 31 нг/мл, AC1685 - 29 нг/мл, AC1686 - 26 нг/мл, AC1695 - 28 нг/мл, AC1714 - 30 нг/мл и AC1715 - 34 нг/мл. Только AC1693 с показателем EC_{50} 9 нг/мл демонстрировала в 3 раза более активное связывание с лигандом rhCD3ε & δ, чем нерасщепляемая AC1484. Данные позволяют предположить, что различие между высвобождающими сегментами композиций может влиять на связывание ProTIA с антигеном CD3, обнаруживаемым на Т-клетках.

[00434] Пример 29. Фармакокинетические свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00435] Фармакокинетические свойства вариантов не обработанной протеазой ProTIA

анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715) анализировали в сочетании с нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1484) на мышах C57BL/6. Каждую ProTIA оценивали при внутривенном введении в дозах 4 мг/кг группам по три мыши. В соответствующие моменты времени, а именно перед введением, через 4 ч, 8 ч, 24 ч, 2 суток, 4 суток, 6 суток и 7 суток брали кровь в пробирки с литиевой солью гепарина и получали плазму. Концентрацию ProTIA в плазме оценивали в сэндвич ELISA с rhEpCAM и биотинилированным антителом к XTEN и не обработанной протеазой ProTIA в качестве стандарта.

[00436] Вкратцеу, на поверхности планшета ELISA (Nunc Maxisorp кат. номер 442404) иммобилизовали 0,1 мкг/100 мкл на лунку rhEpCAM (R&D Systems, кат. номер EHH104111). После инкубации в течение ночи при 4°C планшет ELISA отмывали и блокировали 3% BSA в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем планшет опять отмывали, после чего добавляли не обработанную протеазой и нерасщепляемую ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в диапазоне концентраций, служившие стандартом, соответствующие контроли качества и образцы исследуемой плазмы. Планшет инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре, чтобы стандарты ProTIA, контроли качества и исследуемые образцы связались с иммобилизованным на планшете rhEpCAM. Несвязанные компоненты удаляли посредством нескольких отмывок. Для выявления добавляли биотинилированное антитело к XTEN в концентрации 0,1 мкг/100 мкл и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 1 ч. После отмывания несвязавшегося биотинилированного реагента добавляли стрептавидин, конъюгированный с HRP (Thermo Scientific кат. номер 21130) в разведении 1:30 000 и оставляли планшет инкубироваться при комнатной температуре в течение 1 ч. После нескольких отмывок в каждую лунку добавляли субстрат TMB. После достижения желаемой интенсивности окраски добавляли 0,2 N серную кислоту для остановки реакции и измеряли оптическую плотность (OD) при 450 нм при помощи спектрофотометра. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA, захваченной в сэндвич ELISA с rhEpCAM и биотинилированным антителом к XTEN. Концентрацию ProTIA, присутствующей в образцах плазмы, определяли по стандартной кривой, построенной по соответствующим образцам не обработанной протеазой или нерасщепляемой ProTIA с использованием программы SoftMax Pro. Расчеты

фармакокинетических параметров конечного периода полувыведения ($T_{1/2}$) нерасщепленной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 проводили с использованием программы GraphPad Prism.

[00437] Ожидалось, что результаты покажут отсутствие различий между периодом полуэлиминации ($T_{1/2}$) различных вариантов не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, а также нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3.

[00438] Пример 30. Фармакокинетические свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели клеток яичника OVCAR-3

[00439] Оценивали фармакокинетический профиль расщепленной протеазой, не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в виде смеси независимо меченных металлами молекул на мышах BALB/c nude, несущих опухоль OVCAR-3. Каждой облученной мыши BALB/c nude вводили внутрибрюшинно десять миллионов клеток OVCAR-3 в сутки 0. Лечение начинали, когда увеличение размеров брюшной полости становилось видимым и/или когда масса тела животного увеличивалась на 10-15% по сравнению с сутками 0. Из двадцати мышей, несущих опухоль OVCAR-3, отбирали 18 и рандомизировали в зависимости от их массы тела на 2 группы по 9 животных на группу. Одна группа из 9 мышей получала внутривенную инъекцию 1,5 мг/кг смеси, содержащей эквимолярные концентрации меченной лютецием (Lu) расщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, меченной гольмием (Ho) не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченной тербием (Tb) нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Другой группе из 9 животных вводили внутрибрюшинно 1,5 мг/кг той же смеси ProTIA.

[00440] Чередуя животных одной и той же группы (т.е. групп внутривенного и внутрибрюшинного введения) из-за ограничений, связанных с взятием крови и введением мыши исследуемых образцов, кровь брали путем пункции яремной/нижнечелюстной вены в пробирки с литиевой солью гепарина через 0,5 часа, 4 часа, 8 часов, 24 часа, 48 часов, 3-е сутки, 5-е сутки и 7-е сутки после введения исследуемого образца. Из крови получали плазму путем центрифугирования при 1300 g в течение 10 минут при 4°C и хранили при -80°C до анализа.

[00441] Асцит собирали в группах, получавших как внутривенное, так и внутрибрюшинное введение через 4 ч, 8 ч, 24 ч, 48 ч, 3 суток, 5 суток и 7 суток после

введения исследуемого образца путем чередования животных одной и той же группы. Образцы асцита немедленно центрифугировали при 300 g в течение 10 минут при 4°C и замораживали жидкий компонент при -80°C до анализа. Все образцы (кровь и асцит) анализировали методом ICP-MS (масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой).

[00442] В группе, получавшей внутривенное введение, меченная Ho не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченная Tb нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 демонстрировали схожий период полувыведения в плазме, составлявшее 19,5 ч. Как и ожидалось, меченная Ho не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 имела более длительний период полувыведения в системном кровотоке по сравнению с меченной Lu расщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (19,5 ч против 2 ч) (Фиг 69A). В асците все 3 ProTIA определялись в низком количестве, эквивалентном приблизительно 4% инъецированной дозы (ID)/г в T_{max} 48 ч. Несмотря на низкое количество, все 3 ProTIA оказывали длительное воздействие, находясь в брюшной полости, что отражалось показателем $AUC_{4\text{-}168}$ приблизительно в 400 %ID/г x ч (Фиг 69B).

[00443] В группе, получавшей внутрибрюшинное введение, меченная Ho не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченная Tb нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 достигали Cmax в плазме приблизительно через 8 ч и демонстрировали эквивалентный период полувыведения 21,4 и 22,9 ч, соответственно. Меченная Ho не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 демонстрировала более длительный период полувыведения в системном кровотоке по сравнению с меченной Lu расщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (21,4 ч против 6,5 ч) (Фиг. 70A). В асците меченная Ho не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченная Tb нерасщепляемая ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 выявлялись приблизительно в 10% ID/г с C_{max} 4 ч; тогда как меченная Lu расщепленная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 выявлялась приблизительно в 16%ID/г с C_{max} 48 ч. Воздействующее на организм количество меченной Ho не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 и меченной Tb нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 было приблизительно эквивалентным ($AUC_{4\text{-}168}$ 684 %ID/г x ч), тогда как воздействующее на организм количество меченной Lu расщепленной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 оказалось в 2 раза выше с $AUC_{4\text{-}168}$ 1458 %ID/г x ч (Фиг. 70B). Это было несколько неожиданным, но тем не менее возможным, учитывая, что

обработанная протеазой ProTIA не метаболизировалась опухолеассоциированными протеазами и имела непосредственный доступ к опухоли-мишени и поэтому лучше задерживалась в опухолевом окружении в брюшной полости по сравнению с не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA.

[00444] Результаты показали, что не обработанная протеазой ProTIA стабильна в системной циркуляции больных мышей, несущих опухоль OVCAR-3, и имеет период полувыведения в 10 раз лучше по сравнению с обработанной протеазой ProTIA. Все 3 ProTIA (т.е. обработанная протеазой, не обработанная протеазой и нерасщепляемая) оказывали длительное воздействие в брюшной полости, возможно из-за взаимодействия с опухолью-мишенью.

[00445] Пример 31. Анализ каспазы 3/7 в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3

[00446] Перенаправленную клеточную цитотоксичность не обработанных протеазой композиций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715) в сравнении с нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1484) также оценивали по активности каспазы 3/7 апоптотических клеток. Аналогично анализу цитотоксичности по активности каспазы, описанному выше, PBMC смешивали с EpCAM положительными опухолевыми клетками, такими как HPAF-II (линия клеток опухоли поджелудочной железы человека), HCT-116 (линия клеток колоректальной опухоли человека) и MDA-MB-231 (линия клеток рака молочной железы человека с тройным негативным фенотипом) в соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 10 к 1; и все варианты ProTIA исследовали либо в 8 концентрациях, либо в 12 концентрациях, полученных в серии 5-кратных разведений, как в анализе каспазной активности, описанном выше. Отбирали три репрезентативные клеточные линии с высокой, средней и низкой экспрессией антигена EpCAM, где клетки HPAF-II экспрессировали антиген EpCAM в количестве 1,1 миллион на клетку, HCT-116 в количестве 500 000 на клетку и MDA-MB-231 в количестве 13000 на клетку.

[00447] Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость после лизиса клеток каспазу 3/7 измеряли по количеству люминогенного субстрата каспазы 3/7, расщепленного каспазой 3/7 с испусканием люминесцентного сигнала типа «свечения» (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы.

[00448] При оценке клеточной линии HPAF-II с высокой экспрессией EpCAM активность вариантов не обработанной протеазой ProTIA была схожей у AC1684, AC1685, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715 и приблизительно в 6 раз более низкой у AC1686 (Таблица 13).

[00449] При оценке клеточной линии HCT-116 со средней активностью EpCAM активность вариантов не обработанной протеазой ProTIA была схожей у AC1684, AC1685, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715 и приблизительно в 7 раз более низкой у AC1686 (Таблица 13).

[00450] При оценке клеточной линии MDA-MB-231 с низкой экспрессией EpCAM все ProTIA (не обработанные протеазой и нерасщепляемая) демонстрировали гораздо более низкую активность, чем наблюдавшаяся у клеточных линий с высокой и средней экспрессией EpCAM. Активность вариантов не обработанной протеазой ProTIA была схожей у AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714, и AC1715 и в 4 раза более низкой у AC1684 (Таблица 13).

[00451] Активность нерасщепляемой ProTIA (например, AC1484) была стабильно ниже по сравнению со всеми необработанными протеазой ProTIA (AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715), протестированными на всех клеточных линиях с высокой, средней и низкой экспрессией EpCAM, что согласовывалось с профилем активности не обработанной протеазой и нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в приведенных выше Примерах. (Единственным исключением были AC1684 и AC1484, имеющие эквивалентную активность в клеточной линии MDA-MB-231). Разница между активностью не обработанной протеазой и нерасщепляемой композиций в отношении клеток HPAF-II с высокой экспрессией EpCAM составляла приблизительно 60-кратной, в отношении клеток HCT-116 приблизительно 37-кратной и в отношении клеток MDA-MB-231 - приблизительно 3,6-кратной.

[00452] Результаты показывают, что экспрессия EpCAM приблизительно 500000 или более на клетку-мишень достаточна для обеспечения выраженной цитотоксической активности, тогда как экспрессия EpCAM приблизительно 13000 или менее на клетку-мишень индуцировала гораздо более низкую цитотоксическую активность. Различия в высвобождающих сегментах композиций ProTIA, представленных AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715, может влиять на цитотоксическую активность ProTIA, вызывающую гибель специфических клеток-мишеней в присутствии эффекторных PBMC. Результаты также показывают, что нерасщепляемая ProTIA

стабильно менее активна по сравнению с вариантами не обработанной протеазой анти-EpCAM x анти-CD3 во всех трех исследованных клеточных линиях с высокой, средней и низкой экспрессией EpCAM.

Таблица 13. Цитотоксическая активность *in vitro* вариантов не обработанной протеазой анти-EpCAM x анти-CD3 в отношении клеточных линий человека HPAF-II, HCT-116 и MDA-MB-231

ProTIA	EC50 (пМ)		
	HPAF-II	HCT-116	MDA-MB-231
AC1684	24	32	12200
AC1685	29	27	4340
AC1686	118	240	2680
AC1693	12	21	3480
AC1695	18	53	3750
AC1714	20	52	1740
AC1715	14	20	1190
AC1484	1170	1269	10200

[00453] Пример 32. Сравнение противоопухолевых свойств стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3 на модели с клетками яичника OVCAR-3 со стандартом терапии

[00454] Эффективность *in vivo* вариантов не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 в сравнении с бевацизумабом оценивали с использованием линии клеток яичников человека OVCAR-3, резистентных к платине, которые имплантировали внутрибрюшинно мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rg^{null}) с тяжелым иммунодефицитом. Мыши NOG отличаются дефицитом T-, B- и NK-клеток, а также дисфункцией макрофагов, дендритных клеток и системы комплемента. В сутки 0 девяти группам (группы 1-9) по 6 мышей NOG внутрибрюшинно имплантировали 10×10^6 OVCAR-3 клеток. Когда наблюдалось прогрессирование опухолевых клеток, проявлявшееся увеличением уровня CA125 человека по сравнению с исходным (ниже порога определения) до приблизительно 650 Ед/мл (приблизительно в 21 сутки), 10 X 10^6 PBMC вводили внутривенно группам 1-9. Лечение начинали в сутки инокуляции PBMC, при этом группе 1 внутривенно вводили носитель (PBS+0,05% Tween 80); каждой из групп 2-8 вводили один из вариантов не обработанных протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685,

AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715) по 0,5 мг/кг, а группе 9 внутривенно вводили 2 мг/кг бевацизумаба. Все группы получали воздействие дважды в неделю в течение 4 недель. У мышей ежедневно отслеживали поведение и выживаемость и дважды в неделю массу тела и увеличение размеров брюшной полости. Кровь брали в сутки 27, в сутки 34, в сутки 41, в сутки 48 и при эвтаназии для определения CA125 как признака развития опухоли. Всех мышей подвергали эвтаназии в сутки окончания исследования на 55 сутки, в это время измеряли объем асцита и подсчитывали общее количество и массу всех опухолевых узлов в брюшной полости.

[00455] Рост опухоли OVCAR-3 отчетливо подтверждался увеличением уровня CA125 человека в циркуляции. Ожидалось, что уровень CA125 в группе 1, получавшей носитель, будет существенно увеличиваться со временем. Также ожидалось увеличение уровня CA125 со временем в группе 9, получавшей бевацизумаб, однако в меньшей степени, чем в группе 1, получавшей носитель. Ожидалось снижение уровней CA125 со временем в группах 2-7 вследствие эффективности различных вариантов не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1684, AC1685, AC1686, AC1693, AC1695, AC1714 и AC1715). Поскольку эти варианты несут различные высвобождающие сегменты, с большой вероятностью будут наблюдаться различия в степени эффективности (т.е. степени снижения CA125) не обработанных протеазой вариантов.

[00456] Ожидалось, что при контроле по объему асцита и общему объему опухоли при эвтаназии всех животных не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 при внутривенном введении будет превосходить группы 1 и 9. Ожидалось, что группы 1 и 9 будут иметь асцит при эвтаназии вследствие опухолевого роста. Ожидалось, что в группах 2 и 8 объем асцита и количество опухолевых узлов будет минимальным вследствие эффективности не обработанных протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3. Поскольку эти варианты несут различные высвобождающие сегменты, с большой вероятностью будут наблюдаться различия в степени эффективности не обработанных протеазой вариантов.

[00457] Пример 33. Оценка токсичности *in vivo* ProTIA в сравнении с эквивалентом BiTE

[00458] Токсичность ProTIA оценивали с использованием суррогатных молекул, которые связываются с EpCAM мыши и CD3ε мыши. Основная токсичность, присущая данной молекуле, представляет собой синдром высвобождения цитокинов вследствие экспрессии EpCAM положительными клетками среди лимфоцитов мыши. Исследуемыми образцами

были AC1553X, AC1553A и AC1476A. AC1553X представляет собой рекомбинантную молекулу 138 кДа, состоящую из scFv против EpCAM мыши, слитый с scFv против CD3 мыши, связанный с белком XTEN из 864 аминокислот (AE864), более подробно описанную в Примере 24. Между анти-CD3 scFv и прилегающим XTEN сконструировали чувствительный к опухолеассоциированным протеазам сайт расщепления. Встраивание уникального сайта расщепления протеазой позволяет избирательно расщеплять AC1553X опухолеассоциированными протеазами, такими как MMP-9, MMP-2 и матриптаза, с высвобождения слитых цитотоксических группировок scFv против EpCAM мыши и против CD3 мыши. AC1553A сконфигурирован в формате, эквивалентном молекуле BiTE, который может быть создан при расщеплении AC1553X опухолеассоциированными протеазами и распознает рецепторы EpCAM мыши и CD3δ/ε мыши. AC1476A представляет собой биспецифическую молекулу, распознающую рецепторы EpCAM человека и CD3δ/ε человека и используется в качестве отрицательного контроля в оценке токсичности, поскольку не распознает молекулы EpCAM мыши и CD3 мыши.

[00459] Нормальным мышам BALB/c вводили 500 мкг несвязывающегося эквивалента BiTE (AC1476A), который использовали в качестве отрицательного контроля, различные количества эквивалента BiTE (50, 150 и 500 мкг/кг; AC1553A) и соответствующее молярное количество ProTIA (120, 360 и 1200 мкг/кг; AC1553X). Кровь брали в моменты времени 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24 и 48 часа после введения и определяли уровни цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа и INF-гамма в анализе luminex с использованием мультиплексных наборов для определения цитокинов (кат. номер MHSTCMAG-70K).

[00460] Результаты: За исключением интерферона-гамма (IFN-g; Фиг. 71E), все цитокины в случае AC1553A были существенно выше, чем в случае AC1553X в соответствующей дозе (см. результаты, Фиг. 71). Индуцрование цитокинов IL-2, IL-4, IL-6 и TNF-альфа под воздействием AC1553A было максимальным приблизительно в 4ч после введения, а IL-10 и INF-гамма приблизительно через 10 ч после введения. Индуцрование цитокинов под воздействием AC1553X в целом было отсрочено приблизительно до 6 - 10 ч после введения, а степень индуцрования была гораздо ниже, чем под воздействием AC1553A. Индуцрование цитокинов под воздействием AC1476A, служившей контролем, было очень слабым или не выявлялось. Результаты у мышей, получавших AC1476A, представлены светлыми кружками, 50 мкг/кг AC1553A - пунктирной линией со светлыми ромбами, 150 мкг/кг AC1553A - штрих-пунктирной линией со светлыми ромбами, а 500 мкг/кг

AC1553A - сплошной линией со светлыми ромбами. Результаты у мышей, получавших 120 мкг/кг AC1553X представлены пунктирной линией с черными треугольниками, 360 мкг/кг AC1553X - штрих-пунктирной линией с черными треугольниками, а 1200 мкг/кг AC1553X - сплошной линией с черными треугольниками. Концентрация цитокинов показана в пикограммах на мл сыворотки в зависимости от времени взятия крови.

[00461] Выводы: Индуцрование цитокинов было значительно выше при воздействии AC1553A, чем при AC1553X, что указывало на более выраженный синдром высвобождения цитокинов (CRS) у мышей, получавших AC1553A, по сравнению с мышами, получавшими AC1553X. Это особенно относится к IL-6 (Фиг. 71C), который является клинически значимым параметром и ключевой мишенью при лечении CRS. Уровни IL-6 при наиболее высокой дозе AC1553A были схожи с уровнями IL-6 при наименьшей дозе AC1553X, а с учетом того, что разница в дозировке является 10-кратной, это позволяет предположить, что AC1553X более чем в 10 раз безопаснее AC1553A в плане индуцрования CRS.

[00462] Пример 34. Определение максимальной переносимой дозы ProTIA у мышей C57BL/6.

[00463] Токсичность ProTIA оценивали, используя суррогатную молекулу, которая связывается с EpCAM мыши и CD3ε мыши. Основная токсичность, присущая данной молекуле, представляет собой синдром высвобождения цитокинов вследствие экспрессии EpCAM положительными клетками среди лимфоцитов мыши. Исследуемыми образцами были AC1553X и AC1553A, описанные в Примере 24. Нормальным мышам C57BL/6 вводили различное количество AC1553A (50, 150 и 500 мкг/кг) и соответствующее молярное количество AC1553X (120, 360 и 1200 мкг/кг) и контролировали состояние здоровья и массу тела мышей в течение 14 суток после введения.

[00464] Все мыши, получавшие высокую дозу AC1553A (500 мкг/кг) погибли на третьи сутки после воздействия (5 мышей из 5), а из 5 мышей, получавших среднюю дозу AC1553A (150 мкг/кг) в ходе исследования погибли 3 (Фиг. 72). Низкая доза AC1553A не приводила к гибели мышей. Это отличалось от воздействия AC1553X, где все мыши оставались живы после введения соответствующего молярного эквивалентного количества AC1553A. На Фиг. 72 показан график Каплана-Мейер для мышей C57BL/6, получавших AC1553X и AC1553A. 5 мышей на группу получали 120 мкг/кг AC1553X (пунктирная линия с черными треугольниками), 360 мкг/кг AC1553X (штрих-пунктирная

линия с черными треугольниками) и 1200 мкг/кг AC1553X (сплошная линия с черными треугольниками) и соответствующее молярное количество AC1553A. 50 мкг/кг AC1553A показано пунктирной линией со светлыми ромбами, 150 мкг/кг AC1553A штрих-пунктирной линией со светлыми ромбами и 500 мкг/кг AC1553A - сплошной линией со светлыми ромбами (наносили на график процент выживших мышей в различные моменты времени).

[00465] Результаты: У мышей, которые получали высокую дозу AC1553A (500 мкг/кг) потеря веса тела превышала 10% после 2 суток лечения, и все мыши умерли в течение 3 суток (Фиг. 73A). У мышей, получавших AC1553A в средней дозе (150 мкг/кг) снижение массы тела составляло 10 – 20% в течение 2-4 суток после введения, и 3 мыши погибли, а масса тела оставшихся двух мышей восстановилась до уровней до введения (Фиг. 73B). У мышей, которым вводили низкую дозу AC1553A (50 мкг/кг) наблюдалось временное снижение массы тела в пределах 10% через 2 суток после воздействия, и у всех мышей масса тела восстанавливалась до уровней, равных или превышавших уровни до введения (Фиг 73C). В случае AC1553X, у мышей, получавших высокую дозу (1200 мкг/кг), наблюдалось снижение массы тела более 10% через 2 -3 суток после введения, но у всех масса тела возвращалась к нормальным уровням (Фиг. 73F). При средних и низких дозах AC1553X масса тела снижалась незначительно (Фиг. 73D, E). На график наносили снижение массы тела в процентах в зависимости от времени после введения. Массу в процентах рассчитывали, принимая массу мышей в моменты времени после введения лекарственного средства, и деля на первоначальную массу до введения лекарственного средства и умножая на 100 [(масса после введения лекарственного средства / масса до введения лекарственного средства) x 100]. 5 мышей на группу получали 120 мкг/кг AC1553X (пунктирные линии с черными треугольниками), 360 мкг/кг AC1553X (штрих-пунктирные линии с черными треугольниками), 1200 мкг/кг AC1553X (сплошные линии с черными треугольниками), и соответствующее молярное количество AC1553A. 50 мкг/кг AC1553A показано пунктирными линиями со светлыми ромбами, 150 мкг/кг AC1553A штрих-пунктирными линиями со светлыми ромбами, и 500 мкг/кг AC1553A сплошными линиями со светлыми ромбами. Каждая линия отражает изменение массы тела одной мыши.

[00466] Выводы: Тот факт, что 3 мыши из 5 погибли при получении AC1553A в средних дозах и все мыши (5 из 5) погибли при высоких дозах позволяет предположить, что

максимальная переносимая доза AC1553A у мышей составляет от 50 до 150 мкг/кг. Поскольку все мыши, получавшие AC1553X в различном количестве, остались живы, результаты позволяют предположить, что максимальная переносимая доза AC1553X у мышей превышает 1200 мкг/кг.

[00467] Пример 35. Аффинность связывания стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3.

[00468] Аффинность связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1476) с EpCAM человека и CD3 человека измеряли двумя способами: 1) с использованием поверхностного плазмонного резонанса с рекомбинантными антигенами EpCAM и CD3 и 2) с использованием проточной цитометрии с клетками, экспрессирующими EpCAM и CD3. Следует отметить, что AC1516 является кодон-оптимизированной версией AC1476, и они имеют одинаковую аминокислотную последовательность

[00469] Эксперименты для оценки связывания методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) проводили на Biacore 3000. Для оценки связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с человеческим EpCAM, EpCAM с Fc-фрагментом (R&D Systems, кат. номер 960-EP-050) иммобилизовали на карбоксиметилированном декстрановом чипе с применением 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и N-гидроксисукцинимида (NHS). Затем связывание каждой из трех молекул ProTIA [необработанной (например, AC1516), обработанной протеазой (например, обработанная MMP-9 AC1516), нерасщепляемой (например, AC1484) анти-EpCAM x анти-CD3 с иммобилизованным на чипе EpCAM проводили в 5-6 различных концентрациях для полного анализа кинетики и определения K_d. K_d для связывания EpCAM человека составила 11,4 нМ для необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, 1,15 нМ для обработанной протеазой ProTIA и 10,0 нМ для нерасщепляемой ProTIA.

[00470] Для оценки связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с CD3 человека иммобилизовали CD3εδ с His меткой (Creative Biomart, кат. номер CD3E&CD3D-219H) на карбоксиметилированном декстрановом чипе с применением EDC и NHS. Затем связывание каждой из трех молекул ProTIA [необработанной (например, AC1516), обработанной протеазой (например, обработанная MMP-9 AC1516) и нерасщепляемой (например, AC1484) анти-EpCAM x анти-CD3] с иммобилизованным на чипе CD3 проводили в 5-6 различных концентрациях для полного анализа кинетики и определения K_d. K_d связывания с CD3 человека составила 15,3 нМ для необработанной ProTIA анти-

EpCAM x анти-CD3, 2,22 нМ для обработанной протеазой ProTIA и 27,8 нМ для нерасщепляемой ProTIA.

[00471] Константы связывания для ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с экспрессирующими EpCAM и экспрессирующими CD3 клетками определяли путем конкурентного связывания с флуоресцентно-меченной обработанной протеазой ProTIA. Флуоресцентно-меченная обработанная протеазой ProTIA была получена путем конъюгирования Alexa Fluor 647 C2 малеимида (Thermo Fisher, кат. номер A20347) с мутантной цистеин-содержащей обработанной протеазой ProTIA (обработанная MMP-9 AC1531). Эксперименты по связыванию проводили на 10000 клеток при 4°C в течение 1 часа в общем объеме 100 мкл буфера для связывания (1% бычий сывороточный альбумин в фосфатно-солевом буфере). Клетки отмывали один раз холодным буфером для связывания, затем ресуспендировали в 2% формальдегиде в фосфатно-солевом буфере и немедленно анализировали на проточном цитометре Millipore Guava easyCyte. Связывание флуоресцентно-меченной, обработанной протеазой ProTIA выявило кажущуюся K_d 1,85 нМ для клеток CHO, стабильно трансфицированных EpCAM человека (EpCAM-CHO) и 2,6 нМ для CD3+ клеток Jurkat. При конкурентном связывании флуоресцентно-меченной обработанной протеазой ProTIA с клетками EpCAM-CHO кажущиеся константы связывания составили 2,9 нМ для необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1476) и 0,29 нМ для обработанной протеазой ProTIA (например, обработанной MMP-9 AC1476). При конкурентном связывании флуоресцентно-меченной обработанной протеазой ProTIA с CD3+ клетками Jurkat кажущиеся константы связывания составили 31 нМ для необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1476) и 1,1 нМ для обработанной протеазой ProTIA (например, обработанной MMP-9 AC1476).

[00472] Аффинность связывания с EpCAM обработанной протеазой ProTIA была приблизительно в 10 раз выше, чем у необработанной и нерасщепляемой ProTIA и по результатам SPR, и по результатам проточной цитометрии. Аффинность связывания с CD3 обработанной протеазой ProTIA была выше, чем у необработанной и нерасщепляемой ProTIA: приблизительно в 10 раз по результатам SPR и приблизительно в 30 раз по результатам проточной цитометрии. Эти данные подтверждают вывод, что XTEN снижает аффинность связывания интактной необработанной пролекарственной формы ProTIA по сравнению с обработанной протеазой активированной ProTIA.

Снижение аффинности связывания с EpCAM и CD3 делает менее вероятным связывание необработанной ProTIA с ее мишенями в циркуляции или здоровых тканях.

[00473] Пример 36. Исследование маркеров активации Т-клеток в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3.

[00474] Для измерения индуцированных ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 маркеров активации (CD69 и CD25), 1 X 105 PBMC или выделенных CD3+ клеток культивировали совместно в RPMI-1640, содержащей 10% FCS с 2 X 104 клеток SK-OV-3 или OVCAR3 на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1) в присутствии ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. После 20 ч инкубации при 37°C в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO2, клетки окрашивали конъюгированным с PECy5 антителом к CD4, конъюгированным с APC антителом к CD8, конъюгированным с PE антителом к CD25 и конъюгированным с FITC антителом к CD69 (все антитела BioLegend) в буфере FACS (1% BSA/PBS) при 4°C, дважды отмывали буфером FACS и затем ресуспендировали в буфере FACS для анализа на проточном цитометре Guava easyCyte (Millipore).

[00475] Ожидалось, что маркер активации, экспрессируемый Т-клетками, будет иметь аналогичный профиль для всех трех молекул ProTIA [необработанной (например, AC1695), обработанной протеазой (например, обработанной MMP-9 AC1695) и нерасщепляемой (например, AC1484) анти-EpCAM x анти-CD3], как это наблюдалось в анализе на цитотоксичность по высвобождению каспазы 3/7. Ожидалось, что при использовании клеток SK-OV-3 активация CD69 на CD8 и CD4 популяциях PBMC под воздействием необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) будет приблизительно в 50-100 раз меньше, чем под воздействием обработанной протеазой ProTIA (например, обработанной MMP-9 AC1695); а под воздействием нерасщепляемой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1484) приблизительно в 1000 раз меньше, чем в случае расщепленной протеазой ProTIA (например, обработанной MMP-9 AC1695).

[00476] Пример 37. Анализ высвобождения цитокинов в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3.

[00477] Для измерения индуцированной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 экспрессии цитокинов 1 X 105 выделенных CD3+ клеток культивировали совместно с 2 X 104 SK-OV-

3 клетками на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1) в присутствии ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. После 20 ч инкубации при 37°C, в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO2, клеточный супернатант собирали для измерения цитокинов. Данное исследование также можно осуществлять с другими клетками-мишенями, выбранными из клеточных линий HCT-116, Kato III, MDA-MB-453, MCF-7, MKN45, MT3, NCI-N87, SK-Br-3, SW480, OVCAR3 и PC3, а также с PBMC вместо выделенных CD3+ клеток.

[00478] Количественный анализ цитокинов интерлейкина (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10, фактора некроза опухоли (TNF)-альфа и интерферона (IFN)-гамма, секретированных в культуральную надосадочную жидкость, будет проводиться с применением мультиплексного набора для определения цитокинов Th1/Th2 человека (CBA) (BD Biosciences кат. номер 550749) согласно инструкциям производителя. Ожидалось, что в отсутствие ProTIA секреция цитокинов выделенными CD3+ клетками не будет превышать фоновую. Ожидалось, что ProTIA в присутствии EpCAM-положительных клеток-мишеней и выделенных CD3+ будет активировать Т-клетки и вызывать секрецию Т-клетками цитокинов с высокой долей Th1 цитокинов, таких как IFN-гамма и TNF-альфа.

[00479] Ожидалось, что ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 будет индуцировать устойчивую секрецию всех определяемых цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа, IFN-гамма) (см. Фиг. 50-52). Ожидалось, что стимуляция выделенных CD3+ клеток SK-OV-3 и обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, обработанной MMP-9 AC1695) будет запускать существенную экспрессию цитокинов, особенно в концентрациях выше 20 пМ для всех исследуемых цитокинов. Напротив, при использовании интактной нерасщепленной молекулы ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) в концентрации до 100 пМ ожидались исходные уровни IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа и IFN-гамма. Кроме того, при использовании нерасщепляемой молекулы ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1484) в концентрации до приблизительно 1 нМ ожидались исходные уровни всех определяемых цитокинов.

[00480] <u>Пример 38. Аффинность связывания стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3.</u>

[00481] Аффинность связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) с EpCAM человека и CD3 человека измеряли при помощи проточной цитометрии с

клетками, экспрессирующими EpCAM и CD3.

[00482] Константы связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с экспрессирующими EpCAM и CD3 клетками измеряли при конкурентном связывании с флуоресцентно-меченной обработанной протеазой ProTIA. Флуоресцентно-меченная обработанная протеазой ProTIA была получена путем конъюгирования Alexa Fluor 647 C2 малеимида (Thermo Fisher, кат. номер A20347) с мутантной цистеин-содержащей обработанной протеазой ProTIA (обработанная MMP-9 AC1531). Экспериментальное исследование связывания проводили на 10000 клеток при 4°C в течение 1 ч в общем объеме буфера для связывания 100 мкл (1% бычьего сывороточного альбумина в фосфатно-солевом буфере). Клетки отмывали один раз холодным буфером для связывания, затем ресуспендировали в 2% формальдегиде в фосфатно-солевом буфере и немедленно анализировали на проточном цитометре Millipore Guava easyCyte. Ожидалось, что значение кажущейся K_d связывания флуоресцентно меченной обработанной протеазой ProTIA с клетками CHO, стабильно трансфицированными EpCAM человека (EpCAM-CHO) составит приблизительно 1 нМ и с CD3+ клетками Jurkat приблизительно 3 нМ. Ожидается, что при конкурентном связывании флуоресцентно меченной обработанной протеазой ProTIA с клетками EpCAM-CHO кажущаяся константа связывания будет выражаться однозначным значением в нМ для необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) и будет суб-наномолярной для обработанной протеазой ProTIA (например, обработанной MMP-9 AC1695). Ожидается, что при конкурентном связывании флуоресцентно меченной, обработанной протеазой ProTIA с CD3+ клетками Jurkat кажущаяся константа связывания будет выражаться двузначным значением в нМ для необработанной ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 (например, AC1695) и приблизительно однозначным значением в нМ для обработанной протеазой ProTIA (например, обработанной MMP-9 AC1695).

Таблица 14. Аминокислотные последовательности конструкций ProTIA

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
AC1277	CD19	HHHHHHHHDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLL IYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQ GLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETT TVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRY TMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSA SPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSL TISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAG SPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1278	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQR PGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARL RNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTAT YYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTI NSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1345	EpCAM	HHHHHHHHEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGD IFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYW GQGTTVTVSSGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQG LEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDH YCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		SQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAAT YYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNS GNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1346	EpCAM	HHHHHHHHDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYI NPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWG QGTTVTVSSGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPG QPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGA GTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGW VKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYF CARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGSDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSY MNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQW SSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSE PATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1357	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQR PGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARL RNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTAT YYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTI NSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPG
AC1358	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQR PGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARL RNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKRTSGPGDGGKGGPGKGPGGEGTKGTGPGGEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASGLS GRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1359	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQR PGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARL RNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTM NWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSRTSGPGDGGKGGPGKGPGGEGTKGTGPGGD IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGTAEAASASGLS GRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA	

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1409	EpCAM	HHHHHHHHGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGLSGRSDNHSPLGLAGSGTAEAASASGELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLN SGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLA VYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKI SCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTA YMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTD KSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGG SGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVA SGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAAS ASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPG
AC1410	EpCAM	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGLSGRSDNHSPLGLAGSG TAEAASASGELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTK LEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQ RPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCAR LRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYT MHWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTA TYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLS PGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLT INSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKHHHHHHHH

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
AC1411	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQR PGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARL RNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNW YQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSN PLTFGGGTKVEIKGEGTSTGSGGSGGSGGADDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLR SEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1412	EpCAM	HHHHHHHHEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGD IFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYW GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGN QKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYY CQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTAT YYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTI NSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1413	EpCAM	HHHHHHHHDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYI NPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWG QGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYM NWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWS SNPLTFGGGTKVEIKGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYL TWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDY SYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYA

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		FTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLT FEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1414	EpCAM	HHHHHHHHDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTS KVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGEGT STGSGGSGGSGGADDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGL EWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHY CLDYWGQGTTVTVSSGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYL TWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDY SYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYA FTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLT FEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1476	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHH HHHH
AC1484	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1489	EpCAM	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNL ASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMN WVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY FCARFGNYVDYWGQGSLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCA LWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLESGGGL VQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAE AASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGHHHHHH
AC1490	EpCAM	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNL ASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMN WVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY FCARFGNYVDYWGQGSLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCA LWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLESGGGL VQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGSPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1507	EpCAM	HHHHHHGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPLSGRSDNHSPLGLA GSGTAEAASASGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEI KGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYS FTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESE PPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTY TGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLT VSS

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
AC1510	EpCAM	HHHHHHGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSA ESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALI NPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFD VWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQ QKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPR TFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSV RISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSAS AAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSS
AC1501	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYL NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGN TLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVD KSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASG LSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHH HHH
AC1502	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYL NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGN

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		TLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVD KSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1503	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCAL WYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLESGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFT ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEA ASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGHHHHHH
AC1504	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCAL WYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLESGGGLV QPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFT ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGSPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1505	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQA PGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARN LGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDK SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASGL SGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPAT SGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHH HH
AC1506	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQA PGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARN LGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLN WYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDK SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		EGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1518	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQA PGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARN LGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLESGGGLVQ PGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAA SASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GHHHHHH
AC1519	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQA PGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARN LGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLESGGGLVQ PGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGSPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
AC1521	CEA	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTSVAWYQQKPGKAPKLLIYWTSTRHTGVP SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKVEIKGATPPETGAETE SPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFDFTTYWMSWVRQAP GKGLEWIGEIHPDSSTINYAPSLKDRFTISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLY FGFPWFAYWGQGTPVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTL PWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASGLS GRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHH H
AC1523	CEA	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTSVAWYQQKPGKAPKLLIYWTSTRHTGVP SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKVEIKGATPPETGAETE SPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFDFTTYWMSWVRQAP GKGLEWIGEIHPDSSTINYAPSLKDRFTISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLY FGFPWFAYWGQGTPVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTL PWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1522	PSMA	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQA PGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG WNFDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWT

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		FGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASGLSGRS DNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1524	PSMA	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQA PGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAG WNFDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWT FGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1553X	EpCAM мыши	DIQMTQSPASLSASLGETVSIECLASEGISNDLAWYQQKSGKSPQLLIYATSRLQDGVP SRFSGSGSGTRYSLKISGMQPEDEADYFCQQSYKYPWTFGGGTKLELKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLAESGGGLVQPGRSMKLSCAASGFTFSNFPMAWVRQA PTKGLEWVATISTSGGSTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRSEDTATYYCTRT LYILRVFYFDYWGQGVMVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLPASLGDRVTINCQASQDISNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSGRDSSFTISSLESEDIGSYYCQQY YNYPWTFGPGTKLEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRFTVSR DNAKNLLFLQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMVTVSSGTAEAASASGLSGRS DNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		ESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESAT PESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1553A	EpCAM мыши	DIQMTQSPASLSASLGETVSIECLASEGISNDLAWYQQKSGKSPQLLIYATSRLQDGVP SRFSGSGSGTRYSLKISGMQPEDEADYFCQQSYKYPWTFGGGTKLELKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLAESGGGLVQPGRSMKLSCAASGFTFSNFPMAWVRQA PTKGLEWVATISTSGGSTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRSEDTATYYCTRT LYILRVFYFDYWGQGVMVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLPASLGDRVTINCQASQDISNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSGRDSSFTISSLESEDIGSYYCQQY YNYPWTFGPGTKLEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRFTVSR DNAKNLLFLQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMVTVSSGTAEAASASGLSGRS DNHSPLG
AC1684	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GESGRAANTEPPELGAGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHH HHHH
AC1685	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		GESGRAANTAPEGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHH HHHH
AC1686	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GEPGRAANHEPSGLTEGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHH HHHH
AC1693	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GESGRAANHTGAPPGGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GHHHHHH
AC1695	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GTTGRAGEAANLTPAGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GHHHHHH
AC1714	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GEAGRSANHTPAGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHH HHHH
AC1715	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNL ASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVY YCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQG NTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GESGRAANTTPAGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHH HHHH

Таблица 15. Аминокислотные последовательности конструкций ProTIA

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
AC1949	EpCAM	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPTTGEAGEAAGATSAGATGPATSGSETPGTDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFK GRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSS LPASLGDRVTINCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSGRDSSFTIS SLESEDIGSYYCQQYYNYPWTFGPGTKLEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLV ESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRFTVS RDNAKNLLFLQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMVTVSSGTAEAASASGTTGEAGEAAGA TSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSE PATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1991	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPTTGEAGEAAGATSAGATGPATSGSETPGTDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPG EGQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPS LKSRLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAA SASGTTGEAGEAAGATSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGEPEA
AC2011	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPTTGEAGEAAGATSAGATGPATSGSETPGTDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPG EGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSV KGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVT QEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPG EGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAD SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEA ASASGTTGEAGEAAGATSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2091	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPEAGRSAEATSAGATGPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGEAGRSAEATSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2092	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPEAGESANATSAGATGPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGEAGESANATSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2093	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPEAGESAGATPAGLTGPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGEAGESAGATPAGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2094	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGTYSRGESGPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSASGTYSRGESGPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2095	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGAEGRTDTHPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSASGAEGRTDTHPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2096	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGEPGRAAEHPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSASGEPGRAAEHPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2097	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSPAGESSRGTTIAGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSPAGESSRGTTIAGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2098	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGEPPELGAGPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSASGEPPELGAGPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2099	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGPPPGLTGPPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSASGPPPGLTGPPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2100	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGTPAPLGGEPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSASGTPAPLGGEPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2101	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSPAGPPEGLETEAGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSPAGPPEGLETEAGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2102	Her2	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSPTSGRGGLTGPGSEPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGR FTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASA SGSPTSGRGGLTGPGSEPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2103	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPEAGRSAEATSAGATGPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GEAGRSAEATSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2104	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPEAGESANATSAGATGPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GEAGESANATSAGATGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2105	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPEAGESAGATPAGLTGPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GEAGESAGATPAGLTGPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2106	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGTYSRGESGPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSASGTYSRGESGPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2107	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGAEGRTDTHPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSASGAEGRTDTHPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2108	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGEPGRAAEHPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSASGEPGRAAEHPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2109	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSPAGESSRGTTIAGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSPAGESSRGTTIAGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2110	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGEPPELGAGPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSASGEPPELGAGPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2111	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGPPPGLTGPPGSPATSGSETPGTDIQMTQ

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSASGPPPGLTGPPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2112	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSASGTPAPLGGEPGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSASGTPAPLGGEPGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2113	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSPAGPPEGLETEAGSPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD

ID конструк-ции	Мишени опухоли	Аминокислотные последовательности
		RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSPAGPPEGLETEAGSPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA
AC2114	EGFR	HHHHHHSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGGSAPSPTSGRGGLTGPGSEPATSGSETPGTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISSLQPEDIATYFCQHFDHLPLAFGGGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKS RLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GSPTSGRGGLTGPGSEPPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGAAEPEA

[00483] Пример 39. Конструирование вектора для взятого за основу XTEN с высвобождающим сегментом RSR-1517

[00484] Вектор AC1611 для взятого за основу XTEN с высвобождающим сегментом RSR-1517 (аминокислотная последовательность EAGRSANHEPLGLVAT) сконструирован на основе pNL0356 при помощи PCR и кодирует белок HD2-V5-XTEN144-RSR-1517-XTEN712-H8 под контролем промотора T7lac, где последовательность HD2 представляет собой MKNPEQAEEQAEEQREET, а V5 представляет собой GKPIPNPLLGLDST. Кодирующая последовательность высвобождающего сегмента RSR-1517 в AC1611

фланкирована уникальными рестрикционными сайтами NheI и BsaI, что позволяло осуществлять замену на другие высвобождающие сегменты. После реакции лигирования проводили скрининг трансформантов, выделяя ДНК с помощью набора miniprep, и подтверждали, что конструкции имеют нужную последовательность, при помощи секвенирования ДНК. Полученная конструкция представляет собой AC1611, последовательность ДНК которой и кодируемая аминокислотная последовательность представлены в Таблице 16.

Таблица 16. Последовательность ДНК и аминокислотная последовательность AC1611 XTEN с высвобождающим сегментом

Название конструк-ции	**Последовательность ДНК**	**Аминокислотная последовательность***
AC1611	ATGAAAAACCCAGAGCAAGCAGAAGAACAAGCTGAAGAACAGCGCG AAGAAACAGGCAAACCGATTCCGAACCCGCTGCTGGGTCTGGATAG CACCGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGT ACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAAT CGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCC TGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACT CCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCC CGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACC GAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGC TCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGG GTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACCGCCGA AGCAGCTAGCGCCTCTGGCGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATGAA CCACTGGGTCTGGTTGCTACGCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAA CCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGG TCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCC CCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAAC CATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGG CAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCT GGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCC GACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCC GGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTA CCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGG CTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAG GGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCAC CTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAG CACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCT ACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTG AAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGG CACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAA AGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTACTC CTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGA AGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCC GAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTG CGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGG TAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCG GGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCA CTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTC CGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGC	MKNPEQAEEQAEEQREE TGKPIPNPLLGLDSTEG TSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTAEA ASASGEAGRSANHEPLG LVATPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGSE

Название конструк -ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность*
	GCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCA CCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAG CGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGT TCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTC CAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTC TGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCA AGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAA GCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGG TTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCA GGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCC CAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGC ACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCT GAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCG CAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAG CGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCT GGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGG CTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAAC GCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAA ACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCA GCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCACA TCACCATCACCACCATCATCAC	PATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEG SPAHHHHHHHH

[00485] Пример 40. Экспрессия вариантов RS-XTEN во встряхиваемой колбе

[00486] Вариантами конструкций RS-XTEN трансформировали штамм *E. coli* BL21_DE3 (New England Biolabs) для экспрессии под контролем промотора T7. Стартовые культуры получали путем инокуляции хранящихся в глицерине *E. coli* BL21_DE3, несущих соответствующие плазмиды, в 6 мл среды LB, содержащей 50 мкг/мл канамицина и инкубации в течение ночи при 37ºC и 200 мин-1. Ночные стартовые культуры инокулировали приблизительно 250 мл аутоиндуцирующей среды ZY в соотношении 1:50 и культивировали при 26ºC в течение 26 часов при 200 мин-1. Затем клетки собирали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 30 мин и немедленно использовали или замораживали при -80ºC до применения.

[00487] Аутоиндуирующую среду ZY готовили путем смешивания следующих компонентов: 928 мл среды ZY (10 г бакто-триптона, 5 г дрожжевого экстракта и 925 мл воды; автоклавированной), 1 мл 1M MgSO4, 20 мл 50x раствора 5052 (25 г глицерина, 2,5 г глюкозы (Fisher FLBP350-1), 10 г а-лактозы (Sigma L3625) и 73 мл воды, стерилизованной фильтрованием), 50 мл 20x раствора NPS (чтобы получить 100 мл, растворить 6,6 г (NH4)2SO4, 13,6 г KH2PO4, 14,2 г Na2HPO4 в 90 мл воды, стерилизованной фильтрованием) и 1 мл канамицина (50 мг/мл).

[00488] Пример 41. Очистка вариантов RS-XTEN из культур *E. coli* во встряхиваемых флаконах

[00489] 1) Лизис, осветление и анализ титров

[00490] Клеточный осадок ресуспендировали 1:4 в 50 мМ цитрате, pH 4,0. Ресуспендированные клетки затем нагревали до 80ºC в течение 15 мин, после чего немедленно охлаждали на льду в течение 30 минут. Затем лизат осветляли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 40 минут при 4°C. Супернатант собирали и фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм.

[00491] Титр каждой конструкции оценивали путем анализа 5 мкл очищенного лизата при помощи электрофореза в 4-12% геле NuPAGE Bis-Tris от Invitrogen в присутствии SDS в невосстанавливающих условиях согласно инструкциям производителя с окрашиванием Кумасси. На Фиг. 74A приведен в качестве примера анализ титров 3 вариантов RS, и стрелкой показана миграция продуктов с кажущейся молекулярной массой приблизительно 160 кДа, определенной по маркеру молекулярной массы.

[00492] 2) Одностадийная очистка при помощи IMAC

[00493] Для стадии захвата использовали аффинную хроматографию с иммобилизованными ионами металла (IMAC). Для каждого варианта 10-мл полипропиленовые колонки (Thermo Scientific) заполняли 5 мл смолы ToyoPearl-AF-Chelate 650M (TOSOH Biosciences). Колонку уравновешивали уравновешивающим буфером в количестве 5 объемов колонки (CV) (20 мМ Tris, 100 мМ NaCl, pH 7,5). Перед загрузкой в колонку pH осветленных лизатов доводили до 7,5. После завершения загрузки колонку промывали 3 CV уравновешивающего буфера и затем элюировали 3CV 20 мМ Tris pH 7,5, 100 мМ NaCl, 100 мМ имидазола. Собирали фракции в количестве 1 CV (5 мл).

[00494] Загруженный материал, проточные и элюированные фракции анализировали с помощью электрофореза в 4-12% Bis-Tris SDS-PAGE в невосстанавливающих условиях и окрашивали Кумасси для определения фракций с элюированным белком и их чистоты, как показано на Фиг. 74B (AC1602, AC1609 и AC1610), Фиг. 74C (AC1604, AC1608, AC1611) и Фиг. 74D (AC1612, AC1649, AC1650).

[00495] 3) Количественное определение при помощи HPLC и выпуск партий

[00496] Вышеупомянутые очищенные при помощи одностадийной IMAC варианты анализировали параллельно путем электрофореза в геле 4-12% Bis-Tris SDS-PAGE в невосстанавливающих условиях (Фиг. 74E). Чистота считалась достаточной для

ферментативного скрининга, и концентрацию каждого варианта оценивали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой и проводили количественное определение по стандартной кривой, построенной по соединению с известной концентрацией.

[00497] Выводы: Авторы изобретения показали, что экспрессия разных конструкций RS-XTEN в *E. coli* возможна и одностадийной очистки методом IMAC достаточно для получения этих вариантов с достаточным качеством в достаточном количестве для последующего скрининга с использованием ферментов.

[00498] Пример 42. Активация ферментов, хранение и расщепление RSR-1517-содержащего XTEN AC1611

[00499] В данном примере показано, что RSR-1517-содержащие конструкции XTEN AC1611 могут расщепляться в пробирке различными опухолеассоциированными протеазами, включая рекомбинантные человеческие uPA, матриптазу, легумаин, MMP-2, MMP-7, MMP-9 и MMP-14.

[00500] 1. Активация ферментов

[00501] Все ферменты приобретали в компании R&D Systems. Рекомбинантный человеческий урокиназный активатор плазминогена (uPA) и рекомбинантная человеческая матриптаза поступали в виде активированных ферментов и хранились при -80°C до применения. Рекомбинантная MMP-2 мыши, рекомбинантная MMP-7 человека и рекомбинантная MMP-9 мыши поступали в виде зимогенов и требовали активации ацетатом 4-аминофенилртути (APMA). APMA вначале растворяли в 0,1M NaOH до конечной концентрации 10 мМ и затем вновь доводили pH до нейтральных значений с помощью 0,1M HCl. Дальнейшее разведение матричного раствора APMA до 2,5 мМ осуществляли при помощи 50 мМ Tris pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10 мМ CaCl2. Для активации pro-MMP инкубировали 1 мМ APMA и 100 мкг/мл pro-MMP в 50 мМ Tris pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10 мМ CaCl2 при 37°C в течение 1 ч (MMP-2, MMP-7) или 24 ч (MMP-9). Для активации MMP-14 0,86 мкг/мл рекомбинантного фурина человека и 40 мкг/мл pro-MMP-14 в 50 мМ Tris pH 9, 1 мМ CaCl2 инкубировали при 37°C в течение 1,5 ч. Для активации легумаина инкубировали 100 мкг/мл про-легумаина в 50 мМ ацетате натрия pH 4, 100 мМ NaCl при 37°C в течение 2 ч. Ко всем активированным ферментам добавляли 100% ультрачистый глицерин (включая uPA и MTSP1) до конечной концентрации глицерина 50% и затем хранили при -20°C в течение нескольких недель.

[00502] 2. Ферментативное расщепление

[00503] Использовали панель ферментов для определения эффективности расщепления AC1611 каждым ферментом. 6 мкМ субстрата инкубировали с каждым ферментом в следующих условиях и молярных соотношениях фермент-субстрат: uPA (1:25 в 50 мМ Tris pH 8,5), матриптаза (1:25 в 50 мМ Tris pH 9, 50 мМ NaCl), легумаин (1:20 в 50 мМ MES pH 5, 250 мМ NaCl), MMP-2 (1:1200 в 50 мМ Tris pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10 мМ CaCl2), MMP-7 (1:1200 в 50 мМ Tris pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10 мМ CaCl2), MMP-9 (1:2000 в 50 мМ Tris pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10 мМ CaCl2) и MMP-14 (1:30 в 50 мМ Tris pH 8,5, 3 мМ CaCl2, 1 μM ZnCl2) в объеме реакционной смеси 20 мкл. Реакционные смеси инкубировали при 37°C в течение двух часов и затем останавливали реакцию добавлением EDTA до 20 мМ в случае реакций, катализируемых MMP, нагреванием до 85°C в течение 15 минут в случае реакций, катализируемых uPA и матриптазой, и доведением pH до 8,5 в случае легумаина.

[00504] 3. Анализ эффективности расщепления.

[00505] Анализ образцов для определения процентной доли расщепленного продукта осуществляли, загружая 2 мкл нерасщепленного субстрата (12 мкМ) и 4 мкл расщепленной реакционной смеси (6 мкМ) в гель SDS-PAGE и окрашивания Stains-All (Sigma Aldrich), как показано на Фиг. 75. Для анализа интенсивности соответствующих полос и определения процента расщепления использовали программное обеспечение ImageJ. После расщепления различными протеазами высвобождающего сегмента, из XTEN, содержащего субстрат RSR-1517, образовывалось два фрагмента, больший фрагмент использовали для расчета % расщепления (количество продукта реакции, разделенное на общее количество исходного субстрата, поступившего в реакцию), тогда как интенсивность полосы меньшего продукта была слишком низкой для количественного определения. Процент расщепления AC1611 в существующих стандартных условиях эксперимента составлял 31%, 14%, 16%, 40%, 51%, 38%, 30%, для uPA, матриптазы, легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-14, соответственно.

[00506] Выводы: Авторы изобретения отобрали конкретный высвобождающий сегмент RSR-1517 (аминокислотная последовательность EAGRSANHEPLGLVAT) и установили его профиль расщепления в процентах расщепления в существующих стандартных условиях эксперимента для всех семи ферментов. Данный высвобождающий сегмент расщеплялся всеми ферментами с промежуточной эффективностью, так что при скрининге более быстрое или более медленное расщепление вариантов будет попадать в тестовое окно, что обеспечит возможность правильного ранжирования.

[00507] Пример 43. Скрининг высвобождающих сегментов с использованием RSR-1517 (AC1611) в качестве контроля

[00508] Для демонстрации выполнения скрининга высвобождающих сегментов в качестве примера выбрали uPA. Ту же процедуру применяли ко всем семи опухолеассоциированным протеазам, чтобы установить относительный профиль расщепления для каждого субстрата, чтобы описать, насколько хорошо он может расщепляться каждым ферментом по сравнению с контрольным субстратом.

[00509] 1. Ферментативное расщепление

[00510] Все содержащие высвобождающий сегмент варианты XTEN и контроль AC1611 разводили до 12 мкМ в 50 мМ Tris pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10 мМ CaCl2 в отдельных пробирках Eppendorf. Готовили общую реакционную смесь для uPA, так что при смешивании 1:1 с каждым субстратом общий объем реакционной смеси составлял 20 мкл, исходная концентрация субстрата составляла 6 мкМ, а соотношение фермент-субстрат варьировало от 1:20 до 1:3000, в зависимости от фермента, чтобы продукты реакции и нерасщепленный субстрат можно было визуализировать в конце исследования. Все реакции проводили при 37ºC в течение 2 ч и затем останавливали добавлением EDTA до конечной концентрации 20 мМ. Все продукты анализировали путем электрофореза в геле SDS-PAGE в невосстанавливающих условиях, после чего окрашивали Stains-All. Для каждого геля продукт расщепления AC1611 всегда включали в качестве контроля окрашивания для нормализации различной окраски разных гелей (Фиг. 76).

[00511] 2. Расчет относительной эффективности расщепления

[00512] Процент расщепления отдельных субстратов анализировали при помощи программного обеспечения ImageJ и рассчитывали, как описано выше. Для каждого варианта рассчитывали относительную эффективность расщепления следующим образом:

$$Log_2\left(\frac{\%\ \text{расщепления для представляющего интерес субстрата}}{\%\ \text{расщепления для}\ AC1611\ \text{в том же эксперименте}}\right).$$

[00513] Значение относительной эффективности расщепления +1 указывает, что из субстрата образовалось в два раза больше продукта по сравнению с контролем AC1611, тогда как значение относительной эффективности расщепления -1 указывает, что из субстрата образовалось только 50% продукта по сравнению с контролем AC1611 в условиях эксперимента, описанных выше.

[00514] В данном эксперименте при количественном анализе с помощью программы ImageJ процентная доля расщепленной AC1611 (% расщепления) составил 20%. Субстраты, скрининг которых проводили в данном эксперименте, демонстрировали 21%, 39%, 1%, 58%, 24%, 6%, 15%, 1%, 1% и 25% расщепления, где 1% по существу находится ниже предела чувствительности и не является точным значением. Относительная эффективность расщепления, рассчитанная по формуле, приведенной выше, составила 0,08, 0,95, -4,34, 1,51, 0,26, -1,76, -0,47, -4,34, -4,34 и 0,32, соответственно.

[00515] Выводы: Определили относительную эффективность расщепления 10 вариантов высвобождающих сегментов, подвергнутых воздействию uPA, при сравнении с AC1611 в том же самом эксперименте. Следуя аналогичным процедурам, определили профили расщепления 134 высвобождающих сегментов, используя RSR1517 (AC1611) в качестве эталонного контроля, результаты приведены в Таблице 17. Спектр эффективности расщепления указанных высвобождающих сегментов отдельными ферментами, а также комбинациями, достаточно широк. Например, RSR-1478 характеризовался значением -2,00 в случае MMP-14, что означало, что из данного субстрата образовывалось только 25% продукта по сравнению с эталонным контролем RSR-1517, расщепленным MMP-14. Некоторые высвобождающие сегменты, такие как RSR-1951, оказались лучшими субстратами для всех семи исследуемых протеаз. Эти более быстро расщепляемые высвобождающие сегменты могут найти применение в клинике, если системная токсичность является низкой/приемлемой, а эффективность (частично обусловленная тем, как быстро происходит расщепление, превращая ProTIA в активированную форму) нуждается в улучшении.

Таблица 17: Профили расщепления высвобождающих сегментов при воздействии семи человеческих протеаз с использованием RSR-1517 в качестве контроля

RS ID	AC#	Аминокислотная последовательность	uPA	матриптаза	легумаин	MMP-2	MMP-7	MMP-9	MMP-14
RSR-1517	**AC1611**	**EAGRSANHEPLGLVAT**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**0,00**
BSRS-4	AC1602	LAGRSDNHSPLGLAGS	-0,99	1,69	0,48	0,09	-0,49	-0,04	-0,58
BSRS-5	AC1603	LAGRSDNHVPLSLSMG	-1,40	1,76	0,56	-0,52	0,00	-0,75	-0,21
BSRS-6	AC1604	LAGRSDNHEPLELVAG	-2,71	0,47	0,23	-1,26	0,00	-1,16	-2,79
BSRS-A1	AC1605	ASGRSTNAGPSGLAGP	1,43	2,77	0,09	-0,16	-2,18	0,03	-1,24
BSRS-A2	AC1606	ASGRSTNAGPQGLAGQ	1,36	2,77	-0,14	0,09	-2,64	0,03	-1,03
BSRS-A3	AC1607	ASGRSTNAGPPGLTGP	1,49	2,77	0,05	-1,07	-3,47	-1,82	-3,59
VP-1	AC1608	ASSRGTNAGPAGLTGP	-2,19	1,16	0,90	0,09	-1,22	0,23	0,00
RSR-1752	AC1609	ASSRTTNTGPSTLTGP	-0,55	0,70	0,29	-0,34	-1,29	-0,94	-5,38
RSR-1512	AC1610	AAGRSDNGTPLELVAP	-2,96	1,51	0,56	-1,43	-0,45	-1,09	-3,91
RSR-1517	AC1611	EAGRSANHEPLGLVAT	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VP-2	AC1612	ASGRGTNAGPAGLTGP	-0,70	1,38	1,12	0,00	-0,58	0,23	-0,15
RSR-1018	AC1613	LFGRNDNHEPLELGGG	-4,62	-0,53	1,36	-0,73	-0,43	-2,56	-1,79
RSR-1053	AC1614	TAGRSDNLEPLGLVFG	-3,21	-0,12	-0,13	0,09	-0,03	0,25	-0,19
RSR-1059	AC1615	LDGRSDNFHPPELVAG	-4,62	-0,89	0,56	-3,10	-2,62	-5,14	-6,49
RSR-1065	AC1616	LEGRSDNEEPENLVAG	-4,62	-2,70	0,43	-1,84	-1,00	-3,14	-1,85
RSR-1167	AC1617	LKGRSDNNAPLALVAG	-4,62	3,35	1,32	0,09	0,22	1,18	0,06
RSR-1201	AC1618	VYSRGTNAGPHGLTGR	-3,02	2,35	1,25	0,09	-1,30	0,79	-0,30
RSR-1218	AC1619	ANSRGTNKGFAGLIGP	-0,52	2,66	1,74	-0,30	0,00	-1,33	-1,60
RSR-1226	AC1620	ASSRLTNEAPAGLTIP	-0,98	0,29	0,58	0,07	-0,43	-2,33	-0,42
RSR-1254	AC1621	DQSRGTNAGPEGLTDP	-1,27	-1,17	1,00	-3,10	-2,32	-4,14	-2,92
RSR-1256	AC1622	ESSRGTNIGQGGLTGP	-1,65	-0,58	0,27	-2,26	-3,32	-5,14	-5,51
RSR-1261	AC1623	SSSRGTNQDPAGLTIP	-1,77	-0,36	0,62	-1,14	-1,25	-3,56	-0,98
RSR-1293	AC1624	ASSRGQNHSPMGLTGP	-4,69	2,15	0,91	-0,70	-0,01	1,30	-0,67
RSR-1309	AC1625	AYSRGPNAGPAGLEGR	-4,69	0,53	0,74	-0,70	-2,25	0,86	0,02
RSR-1326	AC1626	ASERGNNAGPANLTGF	-0,27	1,27	1,64	-0,85	-0,74	0,28	-0,13
RSR-1345	AC1627	ASHRGTNPKPAILTGP	0,42	ND	ND	ND	ND	-0,50	ND
RSR-1354	AC1628	MSSRRTNANPAQLTGP	1,07	2,82	0,36	-0,77	-0,64	-1,82	-1,87
RSR-1426	AC1629	GAGRTDNHEPLELGAA	-2,36	-0,65	-0,19	-2,82	-0,18	-0,11	-4,07
RSR-1478	AC1630	LAGRSENTAPLELTAG	-2,06	1,18	0,54	-0,82	0,00	1,73	-2,00
RSR-1479	AC1631	LEGRPDNHEPLALVAS	-3,47	-3,46	0,12	-0,74	0,00	2,05	0,02
RSR-1496	AC1632	LSGRSDNEEPLALPAG	-3,48	-1,46	0,22	-2,81	-5,06	-3,20	-3,22
RSR-1508	AC1633	EAGRTDNHEPLELSAP	-2,74	-1,46	-0,26	-1,48	0,00	0,56	-2,93
RSR-1513	AC1634	EGGRSDNHGPLELVSG	-2,81	-1,87	0,27	-0,90	0,00	1,29	-3,81

RSR-1516	AC1635	LSGRSDNEAPLELEAG	-3,71	-1,87	0,70	-1,69	-0,09	-1,39	-3,22
RSR-1524	AC1636	LGGRADNHEPPELGAG	-0,84	1,12	0,95	-1,22	-2,84	-0,74	-2,57
RSR-1622	AC1637	PPSRGTNAEPAGLTGE	-4,66	-3,46	0,62	-0,70	-1,09	0,93	-0,78
RSR-1629	AC1638	ASTRGENAGPAGLEAP	-4,66	-1,14	1,09	-0,70	-1,74	0,19	-0,25
RSR-1664	AC1639	ESSRGTNGAPEGLTGP	-4,66	-3,46	0,32	-1,18	-0,76	-0,76	-2,31
RSR-1667	AC1640	ASSRATNESPAGLTGE	-3,05	2,00	0,46	-0,93	-1,25	-0,97	-0,83
RSR-1709	AC1641	ASSRGENPPPGGLTGP	-2,64	0,77	-1,00	-0,93	-2,06	-0,76	-1,72
RSR-1712	AC1642	AASRGTNTGPAELTGS	-4,07	-0,51	0,66	-0,93	-0,64	0,29	-0,19
RSR-1727	AC1643	AGSRTTNAGPGGLEGP	-3,55	-0,51	0,32	-1,58	-4,84	-3,08	-1,78
RSR-1754	AC1644	APSRGENAGPATLTGA	-4,68	-3,32	1,06	0,19	-1,40	-1,50	-0,17
RSR-1819	AC1645	ESGRAANTGPPTLTAP	1,20	0,79	-0,70	-3,41	-5,64	-4,67	-6,92
RSR-1832	AC1646	NPGRAANEGPPGLPGS	-3,62	0,58	0,81	-4,39	-6,64	-4,67	-6,48
RSR-1855	AC1647	ESSRAANLTPPELTGP	-0,08	-1,62	0,77	-3,07	-3,47	-4,67	-2,92
RSR-1911	AC1648	ASGRAANETPPGLTGA	0,99	2,20	0,56	-1,29	-3,84	-1,39	-3,11
RSR-1929	AC1649	NSGRGENLGAPGLTGT	-1,68	ND	ND	ND	ND	-3,08	ND
RSR-1951	AC1650	TTGRAANLTPAGLTGP	1,94	2,57	0,39	0,09	-0,09	0,13	-0,42
RSR-2295	AC1761	EAGRSANHTPAGLTGP	0,40	1,48	0,01	1,20	0,35	0,13	0,97
RSR-2298	AC1762	ESGRAANTTPAGLTGP	1,01	0,86	0,55	1,24	0,24	0,07	1,03
RSR-2038	AC1679	TTGRATEAANLTPAGLTGP	4,75	1,00	0,81	0,86	0,10	0,15	0,27
RSR-2072	AC1680	TTGRAEEAANLTPAGLTGP	0,00	-0,49	1,00	0,86	0,11	-0,12	0,27
RSR-2089	AC1681	TTGRAGEAANLTPAGLTGP	3,91	2,05	0,32	0,85	0,02	-0,04	0,27
RSR-2302	AC1682	TTGRATEAANATPAGLTGP	4,73	0,65	0,00	0,74	-0,48	-0,35	0,10
RSR-3047	AC1697	TTGRAGEAEGATSAGATGP							
RSR-3052	AC1698	TTGEAGEAANATSAGATGP							
RSR-3043	AC1699	TTGEAGEAAGLTPAGLTGP							
RSR-3041	AC1700	TTGAAGEAANATPAGLTGP							
RSR-3044	AC1701	TTGRAGEAAGLTPAGLTGP							
RSR-3057	AC1702	TTGRAGEAANATSAGATGP							
RSR-3058	AC1703	TTGEAGEAAGATSAGATGP							
RSR-2485	AC1763	ESGRAANTEPPELGAG	0,61	-0,90	0,15	-5,82	-6,27	-5,36	-5,64
RSR-2486	AC1764	ESGRAANTAPEGLTGP	1,03	0,24	0,95	0,30	0,37	-0,33	-0,74
RSR-2488	AC1688	EPGRAANHEPSGLTEG	-3,27	-1,21	-1,30	-0,73	-0,91	-1,86	-0,88
RSR-2599	AC1706	ESGRAANHTGAPPGGLTGP	1,70	1,02	0,36	0,68	-1,49	-0,71	-2,04
RSR-2706	AC1716	TTGRTGEGANATPGGLTGP	0,07	0,83	1,17	-0,04	-2,25	-2,25	0,00
RSR-2707	AC1717	RTGRSGEAANETPEGLEGP	1,95	3,25	0,96	-1,96	-2,75	-5,00	-1,39
RSR-2708	AC1718	RTGRTGESANETPAGLGGP	1,24	3,25	0,88	-0,37	-3,55	-4,00	-0,49
RSR-2709	AC1719	STGRTGEPANETPAGLSGP	-0,14	0,38	0,40	0,35	-1,03	-1,68	1,86
RSR-2710	AC1720	TTGRAGEPANATPTGLSGP	-0,21	2,04	0,56	0,15	-3,23	-1,83	-0,07
RSR-2711	AC1721	RTGRPGEGANATPTGLPGP	0,58	3,22	1,45	-6,04	-5,55	-5,00	-4,39
RSR-2712	AC1722	RTGRGGEAANATPSGLGGP	0,86	3,15	1,21	-0,34	-3,97	-2,68	-1,58
RSR-2713	AC1723	STGRSGESANATPGGLGGP	0,96	2,22	0,78	-5,04	-5,25	-5,25	-3,32

RSR-2714	AC1724	RTGRTGEEANATPAGLPGP	0,83	3,23	0,96	-4,46	-5,55	-5,00	-4,39
RSR-2715	AC1725	ATGRPGEPANTTPEGLEGP	-4,32	-3,17	0,46	-1,34	-1,93	-1,93	-1,32
RSR-2716	AC1726	STGRSGEPANATPGGLTGP	1,00	2,41	0,51	-0,46	-3,55	-2,68	-1,22
RSR-2717	AC1727	PTGRGGEGANTTPTGLPGP	-0,21	1,54	1,28	-6,04	-5,55	-5,00	-4,39
RSR-2718	AC1728	PTGRSGEGANATPSGLTGP	1,54	3,40	1,29	1,30	-0,20	-0,20	1,63
RSR-2719	AC1729	TTGRASEGANSTPAPLTEP	0,26	1,15	1,30	-1,46	-0,16	-0,16	1,68
RSR-2720	AC1730	TYGRAAEAANTTPAGLTAP	-1,65	2,14	1,21	0,56	0,45	0,21	2,25
RSR-2721	AC1731	TTGRATEGANATPAELTEP	0,77	-0,85	1,25	-2,44	0,00	-4,91	-3,75
RSR-2722	AC1732	TVGRASEEANTTPASLTGP	-1,74	-1,17	0,39	1,08	1,00	1,00	2,14
RSR-2723	AC1733	TTGRAPEAANATPAPLTGP	-0,42	-3,17	1,32	0,76	0,66	0,66	2,17
RSR-2724	AC1734	TWGRATEPANATPAPLTSP	-4,32	1,00	0,55	0,81	0,42	0,42	2,58
RSR-2725	AC1735	TVGRASESANATPAELTSP	-4,32	-0,17	0,86	-0,02	0,45	-1,74	-2,17
RSR-2726	AC1736	TVGRAPEGANSTPAGLTGP	-4,32	-3,17	1,39	1,22	0,24	0,24	2,10
RSR-2727	AC1737	TWGRATEAPNLEPATLTTP	-4,32	0,00	-0,30	-0,50	0,17	-3,91	-1,95
RSR-2728	AC1738	TTGRATEAPNLTPAPLTEP	0,32	0,83	-0,61	-0,80	0,45	0,45	2,00
RSR-2729	AC1739	TQGRATEAPNLSPAALTSP	-4,52	1,73	0,37	1,75	0,93	0,93	2,85
RSR-2730	AC1740	TQGRAAEAPNLTPATLTAP	-2,20	2,73	0,22	1,19	0,51	0,51	1,29
RSR-2731	AC1741	TSGRAPEATNLAPAPLTGP	-1,72	-2,70	1,22	1,57	0,92	0,92	2,32
RSR-2732	AC1742	TQGRAAEAANLTPAGLTEP	-2,52	2,49	1,44	0,32	-0,21	-0,21	2,29
RSR-2733	AC1743	TTGRAGSAPNLPPTGLTTP	1,09	2,91	0,32	0,48	-2,32	-2,32	-3,17
RSR-2734	AC1744	TTGRAGGAENLPPEGLTAP	0,83	2,00	0,66	0,55	0,55	0,55	1,83
RSR-2735	AC1745	TTSRAGTATNLTPEGLTAP	0,38	2,34	0,32	0,48	0,26	0,26	2,12
RSR-2736	AC1746	TTGRAGTATNLPPSGLTTP	1,03	2,91	0,17	1,34	-1,10	-1,10	1,42
RSR-2737	AC1747	TTARAGEAENLSPSGLTAP	-0,20	0,30	0,37	1,57	-0,03	-0,03	2,35
RSR-2738	AC1748	TTGRAGGAGNLAPGGLTEP	1,68	3,37	1,03	-1,32	-1,65	-2,10	-1,05
RSR-2739	AC1749	TTGRAGTATNLPPEGLTGP	1,49	3,43	0,31	-0,12	0,71	-0,58	-0,67
RSR-2740	AC1750	TTGRAGGAANLAPTGLTEP	1,77	3,38	1,49	-1,02	-0,75	-1,32	-0,43
RSR-2741	AC1751	TTGRAGTAENLAPSGLTTP	0,68	3,10	0,56	0,58	-0,51	-0,91	0,42
RSR-2742	AC1752	TTGRAGSATNLGPGGLTGP	1,43	3,42	0,51	-0,27	-3,23	-2,32	-0,17
RSR-2743	AC1753	TTARAGGAENLTPAGLTEP	1,63	2,19	0,78	-0,50	-0,13	-2,58	1,18
RSR-2744	AC1754	TTARAGSAENLSPSGLTGP	1,04	2,32	0,65	0,59	0,00	-0,15	0,49
RSR-2745	AC1755	TTARAGGAGNLAPEGLTTP	1,12	2,77	0,40	-0,77	-0,58	-2,28	-1,00
RSR-2746	AC1756	TTSRAGAAENLTPTGLTGP	-0,81	1,54	0,18	0,42	-0,85	-1,50	-0,26
RSR-2747	AC1757	TYGRTTTPGNEPPASLEAE	-1,49	1,26	0,06	-0,20	-0,36	-2,77	-2,10
RSR-2748	AC1758	TYSRGESGPNEPPPGLTGP	-4,81	-2,32	-0,76	-0,28	-2,68	-2,28	-2,91
RSR-2749	AC1759	AWGRTGASENETPAPLGGE	-4,81	3,15	0,24	-1,28	-3,91	-5,09	-2,58
RSR-2750	AC1760	RWGRAETTPNTPPEGLETE	-1,49	3,28	-0,29	-3,17	-3,91	-5,09	-4,91
RSR-2751	AC1765	ESGRAANHTGAEPPELGAG	1,04	0,37	0,40	-1,59	-5,67	-5,26	-4,93
RSR-2754	AC1801	TTGRAGEAANLTPAGLTES				-0,15	-0,82	-3,61	0,45
RSR-2755	AC1802	TTGRAGEAANLTPAALTES				0,06	0,29	-2,91	0,62
RSR-2756	AC1803	TTGRAGEAANLTPAPLTES				-0,58	-0,39	-2,58	0,49

RSR-2757	AC1804	TTGRAGEAANLTPEPLTES				-1,59	-0,27	-1,89	-0,52
RSR-2758	AC1805	TTGRAGEAANLTPAGLTGA				0,70	-0,43	0,17	0,85
RSR-2759	AC1806	TTGRAGEAANLTPEGLTGA				0,04	-0,72	-1,06	-0,18
RSR-2760	AC1807	TTGRAGEAANLTPEPLTGA				-0,06	-0,12	-1,90	-0,15
RSR-2761	AC1808	TTGRAGEAANLTPAGLTEA				-0,06	-0,55	-3,71	0,69
RSR-2762	AC1809	TTGRAGEAANLTPEGLTEA				-2,14	-0,69	-4,30	-0,59
RSR-2763	AC1810	TTGRAGEAANLTPAPLTEA				-0,76	-0,31	-5,28	0,64
RSR-2764	AC1811	TTGRAGEAANLTPEPLTEA				-2,18	-0,06	-5,28	-0,11
RSR-2765	AC1812	TTGRAGEAANLTPEPLTGP				-0,31	0,07	-5,28	-5,63
RSR-2766	AC1813	TTGRAGEAANLTPAGLTGG				0,77	-0,61	-5,28	-5,63
RSR-2767	AC1814	TTGRAGEAANLTPEGLTGG				-0,20	-0,85	-1,26	-0,25
RSR-2768	AC1815	TTGRAGEAANLTPEALTGG				-0,50	0,13	-1,80	-0,43
RSR-2769	AC1816	TTGRAGEAANLTPEPLTGG				-0,44	-0,26	-2,40	-0,39
RSR-2770	AC1817	TTGRAGEAANLTPAGLTEG				-0,07	-0,47	-3,18	0,40
RSR-2771	AC1818	TTGRAGEAANLTPEGLTEG				-3,05	-0,93	-5,28	-0,99
RSR-2772	AC1819	TTGRAGEAANLTPAPLTEG				-0,53	-0,24	-2,19	0,39
RSR-2773	AC1820	TTGRAGEAANLTPEPLTEG				-3,80	-0,42	-5,28	-0,81
BSRS-1	AC1601	LSGRSDNHSPLGLAGS	0,89	1,94	0,10	-0,67	-2,12	-0,50	-1,92

ND=не определяли

[00516] Пример 44. Конкурентное расщепление с использованием RSR-1517 в качестве внутреннего контроля

[00517] Данный конкурентный анализ разработали для минимизации вариабельности в концентрациях ферментов или условиях реакции, протекающих в разных пробирках в ходе одного и того же эксперимента. Чтобы в одном примере разрезать и контрольный субстрат, и представляющий интерес RS, сконструировали новые контрольные плазмиды.

[00518] 1. Молекулярное клонирование RSR-1517-содержащего внутреннего контроля

[00519] Две плазмиды с внутренним контролем, AC1830 (HD2-V5-AE144-RSR-1517-XTEN288) и AC1840 (HD2-V5-AE144-RSR-1517-XTEN432), конструировали таким же образом, как и AC1611, согласно описанию в Примере 39, с единственной разницей в длине C-концевого XTEN.

[00520] 2. Ферментативное расщепление

[00521] 2x раствор субстрата готовили путем смешивания и разведения выделенных AC1830 или AC1840 и представляющего интерес RS в буфере для анализа до конечных концентраций отдельных субстратов 6 мкМ. Исходную смесь ферментов готовили таким образом, чтобы после смешивания 1:1 с 2-кратным раствором субстрата общий объём реакционной смеси составлял 20 мкл, конечная концентрация субстрата для каждого

компонента составляла 3 мкМ, а соотношение фермент/субстрат было таким, которое выбирали при разработке теста. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 2 часов, а затем останавливали, как описано выше.

[00522] 3. Расчет относительной эффективности расщепления

[00523] Реакционную смесь анализировали при помощи электрофореза в 4-12% SDS-PAGE в невосстанавливающих условиях. Поскольку внутренний контроль и представляющий интерес субстрат имеют разную молекулярную массу, после расщепления на одной дорожке образца должны быть видны четыре полосы. Можно рассчитать процент расщепления и получить относительную эффективность расщепления для обоих по той же формуле, что и в Примере 43:

$$Log_2\left(\frac{\%\ \text{расщепления для представляющего интерес субстрата}}{\%\ \text{расщепления для}\ AC1611\ \text{в том же эксперименте}}\right)$$

[00524] Единственное отличие заключалось в том, что в данном случае оба значения рассчитывали для реакционной смеси в одной пробирке, тогда как ранее - по двум реакциям, в которых использовалась одна и та же смесь ферментов.

[00525] Выводы: Ожидалось, что в таком конкурентном анализе расщепления, включающем RSR-1517 в качестве внутреннего контроля, вариабельность между анализами будет меньше по сравнению с анализом, описанным в примере 43. Авторы изобретения предполагали принять этот метод для будущего скрининга высвобождающих сегментов.

[00526] Пример 45. Конструирование молекул ProTIA с двумя высвобождающими сегментами

[00527] Для создания ProTIA с N-концевым и C-концевым XTEN амплифицировали XTEN292 из плазмиды при помощи PCR с использованием праймеров, включающих на 5' конце участок размером 17-21 п.н., гомологичный остову ДНК на N-конце и нерасщепляемому сайту высвобождения (RSR3028, аминокислотная последовательность TTGEAGEAAGATSAGATGP) на C-конце. Второй набор PCR продуктов, кодирующих легкую и часть тяжелой цепи антитела 4D5MOCB против EpCAM амплифицировали с использованием праймеров, включавших на 5' конце участок размером 16-21 п.н., гомологичный RSR3058 на N-конце и тяжелой цепи 4D5MOCB на C-конце. Эти PCR-фрагменты клонировали в остов вектора, расщепленный BsiWI-SacII, который кодировал последовательно расположенные оставшуюся часть тяжелой цепи 4D5MOCB/scFv против

CD3, вторую копию нерасщепляемого сайта высвобождения RSR3058 и XTEN867 с гексагистидиновой меткой для аффинной очистки, с использованием набора In-Fusion Plasmid Assembly (Takara Bio). Полученный вектор кодировал молекулу ProTIA с компонентами (в направлении от N- к C-концу) XTEN292, нерасщепляемый RSR3058, биспецифический тандемный scFv анти-EpCAM-анти-CD3 с RSR3058, слитым с XTEN_867 с гексагистидиновой меткой для аффинной очистки под контролем промотора PhoA и лидерного пептида STII, обеспечивающего секрецию. Полученная конструкция представляла собой AC1886, последовательность ДНК и кодируемая аминокислотная последовательность которой приведена в Таблице 18.

[00528] AC1886 использовали в качестве матрицы для создания двух конструкций ProTIA, кодирующих XTEN292, расщепляемый высвобождающий сегмент RSR2295, биспецифический тандемный scFv анти-EpCAM-анти-CD3 с RSR2295, слитым с XTEN_868. Для обеих плазмид использовали два общих PCR-продукта, полученных с использованием AC1886 в качестве матрицы: первый кодировал гексагистидиновую метку для аффинной очистки и XTEN292, на 5' конце имел участок, гомологичный остову вектора, а на 3' конце - гомологичный области, кодирующей первый RSR2295; второй кодировал биспецифический тандемный scFv анти-EpCAM-анти-CD3, а в 5' и 3' направлении от тандемного scFv располагались участки, гомологичные областям, кодирующим сегменты RSR2295. Третий фрагмент различался между двумя конструкциями. Третий фрагмент для AC1955 кодировал XTEN868 и пептидную метку C-Tag для аффинной очистки (аминокислотная последовательность EPEA), на 5' конце располагался участок, гомологичный области, кодирующей второй RSR2295, и на 3' конце - участок, гомологичный остову вектора. Третий фрагмент для AC1954 кодировал XTEN866 и гексагистидиновую метку для аффинной очистки, на 5' конце располагался участок, гомологичный области, кодирующей второй RSR2295, и на 3' конце - участок, гомологичный остову вектора. И для AC1955, и для AC1954 три PCR-фрагмента клонировали в AC1886, которая была расщеплена BsiWI-NotI, с использованием набора In-Fusion Plasmid Assembly. Полученный вектор AC1955 кодировал молекулу ProTIA с компонентами (в направлении от N- к C-концу) 6xHIS метка для аффинной очистки, XTEN292, RSR2295, биспецифический тандемный scFv анти-EpCAM-анти-CD3, RSR2295, XTEN868 и пептидная метка C-Tag для аффинной очистки под контролем промотора PhoA и лидерного пептида STII, обеспечивающего секрецию, последовательность ДНК

которого и кодируемая аминокислотная последовательность приведены в Таблице 18. Полученный вектор AC1954 кодирует молекулу ProTIA с компонентами (в направлении от N- к C-концу) 6xHIS метка для аффинной очистки, XTEN292, RSR2295, биспецифический тандемный scFv анти-EpCAM-анти-CD3, RSR2295, XTEN866 и 6xHIS метка для аффинной очистки под контролем промотора PhoA и лидерного пептида STII, обеспечивающего секрецию, последовательность ДНК которого и кодируемая аминокислотная последовательность приведены в Таблице 11. Конструкции ProTIA с различными высвобождающими сегментами или опухолеспецифическими scFvs клонировали путем разрезания AC1954 или AC1955 при помощи DraIII-BtsI, после чего с использованием набора In-Fusion клонировали PCR продукты, содержащие структуру: высвобождающий сайт-распознающий опухоль scFv-анти-CD3 scFv-высвобождающий сайт, с участком 17-20 п.н., гомологичным XTEN292, 5' конце и участком, гомологичным C-концевому XTEN, на 3' конце. AC1954 использовали в качестве остова для создания конструкций AC1948, AC1952 и AC1969. AC1955 использовали в качестве остова для создания конструкций AC1972, AC1976, AC2009, AC2078, AC2084, а последовательности этих конструкций приведены в Таблице 12.

Таблица 18: Последовательность ДНК и аминокислотная последовательность конструкций ProTIA из Примера 45

Название конструкции	**Последовательность ДНК**	**Аминокислотная последовательность ***
AC1886	TTCTCATGTTTGACAGCTTATCATCGATAAGCTTTAATGCGGTAGTTTATCA CAGTTAAATTGCTAACGCAGTCAGGCACCGTGTATGAAATCTAACAATGCGC TCATCGTCATCCTCGGCACCGTCACCCTGGATGCTGTAGGCATAGGCTTGGT TATGCCGGTACTGCCGGGCCTCTTGCGGGATATCGTCCATTCCGACAGCATC GCCAGTCACTATGGCGTGCTGCTCGCGCTATATGCGTTGATGCAATTTCTAT GCGCACCCGTTCTCGGAGCACTGTCCGACCGCTTTGGCCGCCGCCCAGTCCT GCTCGCTTCGCTACTTGGAGCCACTATCGACTACGCGATCATGGCGACCACA CCCGTCCTGTGGATCCTCTACGCCGGACGCATCGTGGCCGGCATCACCGGCG CCACAGGTGCGGTTGCTGGCGCCTATATCGCCGACATCACCGATGGGGAAGA TCGGGCTCGCCACTTCGGGCTCATGAGCGCTTGTTTCGGCGTGGGTATGGTG GCAGGCCCCGTGGCCGGGGGACTGTTGGGCGCCATCTCCTTGCATGCACCAT TCCTTGCGGCGGCGGTGCTCAACGGCCTCAACCTACTACTGGGCTGCTTCCT AATGCAGGAGTCGCATAAGGGAGAGCGTCGACCGATGCCCTTGAGAGCCTTC AACCCAGTCAGCTCCTTCCGGTGGGCGCGGGGCATGACTATCGTCGCCGCAC TTATGACTGTCTTCTTTATCATGCAACTCGTAGGACAGGTGCCGGCAGCGCT CTGGGTCATTTTCGGCGAGGACCGCTTTCGCTGGAGCGCGACGATGATCGGC CTGTCGCTTGCGGTATTCGGAATCTTGCACGCCCTCGCTCAAGCCTTCGTCA CTGGTCCCGCCACCAAACGTTTCGGCGAGAAGCAGGCCATTATCGCCGGCAT GGCGGCCGACGCGCTGGGCTACGTCTTGCTGGCGTTCGCGACGCGAGGCTGG ATGGCCTTCCCCATTATGATTCTTCTCGCTTCCGGCGGCATCGGGATGCCCG CGTTGCAGGCCATGCTGTCCAGGCAGGTAGATGACGACCATCAGGGACAGCT TCAAGGATCGCTCGCGGCTCTTACCAGCCTAACTTCGATCATTGGACCGCTG ATCGTCACGGCGATTTATGCCGCCTCGGCGAGCACATGGAACGGGTTGGCAT	SPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSESA TPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGG SAPTTGEAGEAAGATSA GATGPATSGSETPGTDI QMTQSPSSLSASVGDRV TITCRSTKSLLHSNGIT YLYWYQQKPGKAPKLLI YQMSNLASGVPSRFSSS

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	GGATTGTAGGCGCCGCCCTATACCTTGTCTGCCTCCCCGCGTTGCGTCGCGG	GSGTDFTLTISSLQPED
	TGCATGGAGCCGGGCCACCTCGACCTGAATGGAAGCCGGCGGCACCTCGCTA	FATYYCAQNLEIPRTFG
	ACGGATTCACCACTCCAAGAATTGGAGCCAATCAATTCTTGCGGAGAACTGT	QGTKVEIKGATPPETGA
	GAATGCGCAAACCAACCCTTGGCAGAACATATCCATCGCGTCCGCCATCTCC	ETESPGETTGGSAESEP
	AGCAGCCGCACGCGGCGCATCTCGGGCAGCGTTGGGTCCTGGCCACGGGTGC	PGEGQVQLVQSGPGLVQ
	GCATGATCGTGCTCCTGTCGTTGAGGACCCGGCTAGGCTGGCGGGGTTGCCT	PGGSVRISCAASGYTFT
	TACTGGTTAGCAGAATGAATCACCGATACGCGAGCGAACGTGAAGCGACTGC	NYGMNWVKQAPGKGLEW
	TGCTGCAAAACGTCTGCGACCTGAGCAACAACATGAATGGTCTTCGGTTTCC	MGWINTYTGESTYADSF
	GTGTTTCGTAAAGTCTGGAAACGCGGAAGTCAGCGCCCTGCACCATTATGTT	KGRFTFSLDTSASAAYL
	CCGGATCTGCATCGCAGGATGCTGCTGGCTACCCTGTGGAACACCTACATCT	QINSLRAEDTAVYYCAR
	GTATTAACGAAGCGCTGGCATTGACCCTGAGTGATTTTTCTCTGGTCCCGCC	FAIKGDYWGQGTLLTVS
	GCATCCATACCGCCAGTTGTTTACCCTCACAACGTTCCAGTAACCGGGCATG	SGGGGSDIQMTQSPSSL
	TTCATCATCAGTAACCCGTATCGTGAGCATCCTCTCTCGTTTCATCGGTATC	SASVGDRVTITCRASQD
	ATTACCCCCATGAACAGAAATCCCCCTTACACGGAGGCATCAGTGACCAAAC	IRNYLNWYQQKPGKAPK
	AGGAAAAAACCGCCCTTAACATGGCCCGCTTTATCAGAAGCCAGACATTAAC	LLIYYTSRLESGVPSRF
	GCTTCTGGAGAAACTCAACGAGCTGGACGCGGATGAACAGGCAGACATCTGT	SGSGSGTDYTLTISSLQ
	GAATCGCTTCACGACCACGCTGATGAGCTTTACCGCAGCTGCCTCGCGCGTT	PEDFATYYCQQGNTLPW
	TCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCAC	TFGQGTKVEIKGATPPE
	AGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCA	TGAETESPGETTGGSAE
	GCGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGCGCAGCCATGACCCAGTCACGTAGCGATA	SEPPGEGEVQLVESGGG
	GCGGAGTGTATACTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGA	LVQPGGSLRLSCAASGY
	GTGCACCACATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACC	SFTGYTMNWVRQAPGKG
	GCATCAGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGT	LEWVALINPYKGVSTYN
	TCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCC	QKFKDRFTISVDKSKNT
	ACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAA	AYLQMNSLRAEDTAVYY
	AGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCG	CARSGYYGDSDWYFDVW
	CCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAAC	GQGTLVTVSSGTAEAAS
	CCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGC	ASGTTGEAGEAAGATSA
	GCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCC	GATGPSPGSPAGSPTST
	TTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCG	EEGTSESATPESGPGTS
	GTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGC	TEPSEGSAPGSPAGSPT
	CCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAG	STEEGTSTEPSEGSAPG
	ACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCG	TSTEPSEGSAPGTSESA
	AGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCT	TPESGPGSEPATSGSET
	ACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTT	PGSEPATSGSETPGSPA
	CGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGC	GSPTSTEEGTSESATPE
	GGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTC	SGPGTSTEPSEGSAPGT
	AAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAA	STEPSEGSAPGSPAGSP
	CTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAG	TSTEEGTSTEPSEGSAP
	ATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGT	GTSTEPSEGSAPGTSES
	AAACTTGGTCTGACAGTTAATTAAGAAAGTTAATCTTTTCAACAGCTGTCAT	ATPESGPGTSTEPSEGS
	AAAGTTGTCACGGCCGAGACTTATAGTCGCTTTGTTTTTATTTTTTAATGTA	APGTSESATPESGPGSE
	TTTGTAACTAGTACGCAAGTTCACGTAAAAAGGGTATCTAGACATATGAAGA	PATSGSETPGTSTEPSE
	AAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTGCTACAAA	GSAPGTSTEPSEGSAPG
	CGCGTACGCTTCCCCAGCAGGCAGCCCGACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGC	TSESATPESGPGTSESA
	GAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCGGGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAG	TPESGPGSPAGSPTSTE
	GTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCGCGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAG	EGTSESATPESGPGSEP
	CGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAACGCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACT	ATSGSETPGTSESATPE
	CCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCTGCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAG	SGPGTSTEPSEGSAPGT
	GCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGTCGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCC	STEPSEGSAPGTSTEPS
	TAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAG	EGSAPGTSTEPSEGSAP
	GAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCTGAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGG	GTSTEPSEGSAPGTSTE
	CAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTACCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAG	PSEGSAPGSPAGSPTST
	CGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCCGACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCA	EEGTSTEPSEGSAPGTS
	GCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAGGGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAG	ESATPESGPGSEPATSG
	GTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTGCCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTAC	SETPGTSESATPESGPG
	CAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGGTCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACC	SEPATSGSETPGTSESA
	CCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCTGCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGG	TPESGPGTSTEPSEGSA
	GCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCGAGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTC	PGTSESATPESGPGSPA
	CCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTCCACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCG	GSPTSTEEGSPAGSPTS
	CCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGC	TEEGSPAGSPTSTEEGT

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	CTACTACAGGGGAGGCGGGGGAAGCAGCAGGGGCGACTTCTGCTGGGGCTAC CGGCCCCGCTACCTCAGGCTCCGAAACCCCGGGCACCGATATCCAGATGACC CAGAGCCCTTCTTCCCTGTCCGCATCCGTCGGCGATCGTGTCACGATTACCT GTCGCAGCACTAAGAGCCTGCTGCACTCAAACGGTATCACGTACCTGTACTG GTACCAGCAGAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATTTATCAGATGAGC AACCTGGCATCGGGCGTGCCGAGCCGTTTCAGCAGCAGCGGTAGCGGTACCG ACTTCACGCTGACCATCAGCTCGTTGCAGCCAGAGGACTTTGCGACGTACTA TTGTGCGCAAAACTTGGAAATTCCGCGCACCTTCGGCCAGGGTACGAAAGTT GAGATTAAAGGTGCCACCCCACCGGAGACTGGTGCAGAAACCGAGTCTCCGG GCGAAACCACGGGCGGTAGCGCGGAGAGCGAACCGCCTGGTGAGGGTCAAGT TCAATTGGTTCAGAGCGGTCCGGGTCTGGTTCAACCGGGCGGCAGCGTGCGC ATTTCTTGTGCGGCCAGCGGTTACACCTTTACGAACTACGGTATGAATTGGG TGAAACAAGCTCCGGGCAAAGGTCTGGAGTGGATGGGTTGGATCAATACCTA TACCGGTGAATCCACTTACGCGGATTCCTTTAAGGGCCGTTTCACCTTCAGC CTGGACACGAGCGCGAGCGCTGCATATCTGCAAATCAATAGCCTGCGTGCCG AAGATACCGCGGTGTACTATTGCGCGCGTTTTGCAATCAAGGGCGACTATTG GGGTCAAGGCACGCTGCTGACCGTGAGCAGCGGTGGTGGCGGCAGCGATATC CAAATGACCCAATCCCCATCCTCCCTGTCTGCAAGCGTTGGTGATCGTGTGA CGATTACGTGCCGTGCCTCCCAAGATATCCGTAACTACCTGAATTGGTATCA GCAGAAACCGGGCAAGGCTCCGAAATTGCTGATCTACTACACCAGCCGCCTG GAGTCGGGTGTGCCTAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGTTCGGGTACCGACTATA CCTTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTCGCGACGTATTACTGCCA ACAGGGTAACACGCTGCCGTGGACCTTTGGCCAAGGTACCAAAGTCGAGATT AAGGGTGCGACCCCGCCGGAAACCGGTGCGGAAACCGAGAGCCCGGGTGAAA CGACTGGCGGCTCTGCAGAGAGCGAGCCGCCAGGTGAGGGCGAAGTCCAACT GGTCGAGTCTGGTGGCGGCCTGGTGCAACCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGC TGCGCTGCGAGCGGCTATAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGGGTTCGCC AGGCACCGGGTAAGGGTCTGGAATGGGTGGCGCTGATCAATCCGTACAAAGG TGTGAGCACTTACAATCAGAAATTCAAAGACCGTTTCACCATTAGCGTTGAC AAGAGCAAGAATACCGCGTATCTGCAGATGAACAGCTTGCGCGCCGAGGATA CGGCCGTTTACTACTGTGCACGTAGCGGCTATTACGGTGACAGCGACTGGTA CTTTGACGTCTGGGGTCAGGGCACGCTGGTCACCGTTAGCAGCGGCACCGCC GAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCACGACTGGTGAAGCCGGAGAGGCAGCTGGCG CGACCTCAGCGGGGGCTACTGGGCCTTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCC AACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTCCT GGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTA GCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCGC TCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAA AGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTG AAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACC GGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCT GAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTA CCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCC TACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCA GGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTG CGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGC CCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCA GCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTA GCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTC TGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCT GAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCA CCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGCTACCTC TGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCG GGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGC CTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGC GCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACG GAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTA GCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAG CACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCA CTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAG	SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSE GSAPGHHHHHH

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	CGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCG GGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCG CAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGA AGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCA GGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAA GCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTC TGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGC TCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTT CTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGAC TCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCA GGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTG CAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAAC CCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCT GGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCA CTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAG CGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCT GAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTA GCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAG CGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAG GGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAAC CATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAAC GCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACC GAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCACCATCACTAAACTA GTTAAAAGCATGCGGCCGCCTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTC TTGAGGGGTTTTTTGTTGGCGCGCCGGAAATACAGGAACGCACGCTGGATGG CCCTTCGCTGGGATGGTGAAACCATGAAAAATGGCAGCTTCAGTGGATTAAG TGGGGGTAATGTGGCCTGTACCCTCTGGTTGCATAGGTATTCATACGGTTAA AATTTATCAGGCGCGATCGCGGCAGTTTTTCGGGTGGTTTGTTGCCATTTTT ACCTGTCTGCTGCCGTGATCGCGCTGAACGCGTTTTAGCGGTGCGTACAATT AAGGGATTATGGTAAATCCACTTACTGTCTGCCCTCGTAGCCATCGAA	
AC1955	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTCACCATCATCACCATCACTCCCCAGCAGGCAGCCC GACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCG GGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCG CGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAAC GCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCT GCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGT CGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCC TGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCT GAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTA CCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCC GACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAG GGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTG CCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGG TCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCT GCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCG AGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTC CACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAG GGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGCCTGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATA CCCCAGCGGGGCTGACTGGGCCTGCTACCTCAGGCTCCGAAACCCCGGGCAC CGACATCCAAATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGCGAC CGTGTTACCATCACCTGCCAAGCGAGCCAAGACATCAGCAACTACCTGAACT GGTATCAGCAAAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATCTACGACGCGAG CAACCTGGAAACCGGTGTGCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACC GATTTCACCTTTACCATCAGCAGCCTGCAACCGGAGGACATCGCGACCTATT TCTGCCAGCACTTTGATCACCTGCCGCTGGCGTTTGGTGGCGGTACCAAAGT TGAGATTAAAGGTGCAACGCCTCCGGAGACTGGTGCTGAAACTGAGTCCCCG GGCGAGACGACCGGTGGCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCCAGG TGCAACTGCAGGAAAGCGGTCCGGGCCTGGTTAAACCGAGCGAAACCCTGAG CCTGACCTGCACCGTGAGCGGCGGTAGCGTTAGCAGCGGTGACTACTATTGG ACCTGGATCCGTCAAAGCCCGGGTAAAGGCCTGGAGTGGATCGGTCACATTT	HHHHHHSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGGSAPEAGRSANH TPAGLTGPATSGSETPG TDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCQASQDISNYL NWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLQPEDIA TYFCQHFDHLPLAFGGG TKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPG EGQVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGGSVSSG DYYWTWIRQSPGKGLEW IGHIYYSGNTNYNPSLK

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	ACTATAGCGGCAACACCAACTACAACCCGAGCCTGAAGAGCCGTCTGACCAT	SRLTISIDTSKTQFSLK
	CAGCATTGACACCAGCAAAACCCAGTTCAGCCTGAAACTGAGCAGCGTGACC	LSSVTAADTAIYYCVRD
	GCGGCGGATACCGCGATTTACTATTGCGTTCGTGATCGTGTTACCGGCGCGT	RVTGAFDIWGQGTMVTV
	TCGACATCTGGGGTCAGGGCACCATGGTTACCGTTAGCAGCGGTGGTGGCGG	SSGGGGSELVVTQEPSL
	CAGCGAGTTAGTTGTGACCCAAGAGCCGAGCCTGACCGTTAGCCCGGGTGGT	TVSPGGTVTLTCRSSTG
	ACGGTCACCCTGACGTGCCGTAGCAGCACCGGTGCGGTCACGACCAGCAACT	AVTTSNYANWVQQKPGQ
	ATGCCAATTGGGTCCAGCAGAAACCGGGTCAAGCACCGCGTGGCCTGATCGG	APRGLIGGTNKRAPGTP
	CGGCACCAATAAACGTGCCCCGGGTACTCCTGCGCGTTTCTCCGGTAGCCTG	ARFSGSLLGGKAALTLS
	CTGGGCGGCAAAGCCGCTCTGACCCTGAGCGGTGTCCAGCCGGAAGATGAAG	GVQPEDEAEYYCALWYS
	CGGAGTACTACTGCGCGCTGTGGTATTCCAATCTGTGGGTTTTTGGCGGCGG	NLWVFGGGTKLTVLGAT
	TACCAAGCTGACCGTATTGGGTGCTACGCCACCGGAGACTGGCGCAGAAACG	PPETGAETESPGETTGG
	GAAAGCCCGGGTGAGACTACGGGTGGCTCTGCGGAGAGCGAACCTCCGGGTG	SAESEPPGEGEVQLLES
	AGGGTGAGGTCCAACTGCTGGAGTCTGGTGGTGGCCTGGTTCAACCGGGTGG	GGGLVQPGGSLKLSCAA
	CTCGTTGAAGCTGAGCTGTGCAGCTAGCGGCTTTACCTTCAACACCTATGCG	SGFTFNTYAMNWVRQAP
	ATGAATTGGGTTCGTCAGGCACCGGGTAAGGGCCTGGAATGGGTGGCGCGTA	GKGLEWVARIRSKYNNY
	TCCGCTCCAAGTACAACAACTACGCGACCTACTACGCGGATAGCGTTAAAGA	ATYYADSVKDRFTISRD
	CCGCTTCACGATTAGCCGTGACGATTCCAAGAATACGGCATATCTGCAAATG	DSKNTAYLQMNNLKTED
	AACAATCTGAAAACCGAAGATACCGCGGTGTATTACTGTGTGCGCCACGGCA	TAVYYCVRHGNFGNSYV
	ATTTCGGCAACAGCTACGTGAGCTGGTTTGCATATTGGGGTCAGGGCACCCT	SWFAYWGQGTLVTVSSG
	GGTTACGGTGAGCTCCGGCACCGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCGAGGCA	TAEAASASGEAGRSANH
	GGTCGTTCTGCTAACCATACCCCAGCGGGGCTGACTGGGCCTCCAGGTAGCC	TPAGLTGPPGSPAGSPT
	CAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCC	STEEGTSESATPESGPG
	AGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGC	TSTEPSEGSAPGSPAGS
	TCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCAT	PTSTEEGTSTEPSEGSA
	CTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCC	PGTSTEPSEGSAPGTSE
	GGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCT	SATPESGPGSEPATSGS
	ACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAA	ETPGSEPATSGSETPGS
	CTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGA	PAGSPTSTEEGTSESAT
	GTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGT	PESGPGTSTEPSEGSAP
	TCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTC	GTSTEPSEGSAPGSPAG
	CGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGA	SPTSTEEGTSTEPSEGS
	GGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC	APGTSTEPSEGSAPGTS
	ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAA	ESATPESGPGTSTEPSE
	GCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCC	GSAPGTSESATPESGPG
	GGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAA	SEPATSGSETPGTSTEP
	CCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCG	SEGSAPGTSTEPSEGSA
	CTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGA	PGTSESATPESGPGTSE
	AAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCC	SATPESGPGSPAGSPTS
	ACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCG	TEEGTSESATPESGPGS
	AACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCC	EPATSGSETPGTSESAT
	GGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGT	PESGPGTSTEPSEGSAP
	ACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAACCTT	GTSTEPSEGSAPGTSTE
	CGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACC	PSEGSAPGTSTEPSEGS
	AGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAA	APGTSTEPSEGSAPGTS
	CCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCG	TEPSEGSAPGSPAGSPT
	AAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGA	STEEGTSTEPSEGSAPG
	GAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCT	TSESATPESGPGSEPAT
	GAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAG	SGSETPGTSESATPESG
	AGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCC	PGSEPATSGSETPGTSE
	GGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGT	SATPESGPGTSTEPSEG
	ACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTC	SAPGTSESATPESGPGS
	CAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGA	PAGSPTSTEEGSPAGSP
	AGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCC	TSTEEGSPAGSPTSTEE
	GCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTG	GTSESATPESGPGTSTE
	CACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACC	PSEGSAPGTSESATPES
	AGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAA	GPGSEPATSGSETPGTS
	TCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCT	ESATPESGPGSEPATSG
	CTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGA	SETPGTSESATPESGPG
	GGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGT	TSTEPSEGSAPGSPAGS
	ACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGT	PTSTEEGTSESATPESG
	CTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCC	PGSEPATSGSETPGTSE

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	TGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGT AGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTG CTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGA ATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAA TCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGG AACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAAC GAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGT ACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGT CTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCC GGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCGCCGCAGAACCAGAGGCG	SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGEPEA
AC2009	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTCACCATCATCACCATCACTCCCCAGCAGGCAGCCC GACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCG GGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCG CGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAAC GCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCT GCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGT CGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCC TGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCT GAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTA CCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCC GACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAG GGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTG CCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGG TCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCT GCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCG AGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTC CACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAG GGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGCCTGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATA CCCCTGCAGGATTAACTGGCCCCGCCACCAGCGGGAGCGAGACCCCCGGGAC TGATATTCAGATGACCCAGAGCCCGTCCTCCCTGAGCGCTTCTGTTGGCGAC CGCGTGACCATCACCTGCCGTGCTTCCCAGGATGTTAACACCGCTGTAGCTT GGTATCAACAGAAACCGGGCAAAGCACCGAAACTGCTGATCTACTCTGCTTC CTTTCTGTATAGCGGTGTTCCGTCTCGTTTCAGCGGCTCTCGTAGCGGTACG GATTTTACTCTGACGATCAGCTCTCTGCAGCCGGAGGACTTCGCTACCTACT ACTGCCAGCAGCACTACACCACCCCGCCTACCTTTGGTCAGGGCACCAAAGT GGAAATCAAGGGTGCAACGCCTCCGGAGACTGGTGCTGAAACTGAGTCCCCG GGCGAGACGACCGGTGGCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCGAGG TCCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGCGGTCTGGTCCAACCTGGTGGCTCCCTGCG CCTGTCTTGCGCAGCGTCCGGCTTTAATATCAAAGATACGTACATTCACTGG GTCCGCCAGGCACCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTTGCTCGTATCTACCCGA CTAACGGTTATACCCGTTATGCAGACAGCGTAAAGGGTCGCTTCACGATCTC CGCGGATACCTCCAAAAACACCGCATACCTGCAAATGAACTCTCTGCGTGCG GAAGATACTGCCGTGTACTACTGCTCTCGCTGGGGCGGTGACGGTTTCTATG CAATGGACTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTAACTGTTTCCTCTGGTGGTGG CGGCAGCGAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCTTACCGTTTCACCAGGT GGAACAGTGACTCTGACGTGTCGCTCCTCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCA ATTATGCTAATTGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTCGCGGGTTGAT TGGCGGCACCAACAAACGTGCTCCAGGGACACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCC TTATTGGGGGGCAAAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCAGCCGGAGGATG AGGCAGAGTATTACTGCGCATTGTGGTATTCTAATTTATGGGTTTTTGGAGG CGGCACAAAGCTGACCGTCCTGGGTGCGACCCCGCCGGAAACCGGTGCGGAA ACCGAAAGCCCGGGTGAAACCACCGGTGGCAGCGCGGAGAGCGAACCGCCGG GTGAAGGTGAGGTTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCCAACCTGG AGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTAACACGTAT GCAATGAACTGGGTCCGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTAGCTC GCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACCTACTACGCAGACAGTGTCAA AGATCGCTTCACTATCTCACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACAG ATGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCTACTACTGCGTGCGCCACG	HHHHHHSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGGSAPEAGRSANH TPAGLTGPATSGSETPG TDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQDVNTAV AWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSRS GTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQG TKVEIKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPG EGEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDT YIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKG RFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCSRWG GDGFYAMDYWGQGTLVT VSSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCRSST GAVTTSNYANWVQQKPG QAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCALWY SNLWVFGGGTKLTVLGA TPPETGAETESPGETTG GSAESEPPGEGEVQLLE SGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNTYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTE DTAVYYCVRHGNFGNSY

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	GGAATTTCGGTAACTCTTATGTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTAC GTTGGTAACCGTATCCAGCGGGACTGCTGAGGCGGCTAGCGCCTCCGGAGAA GCTGGAAGAAGCGCCAATCACACACCAGCTGGACTTACAGGCCCGCCTGGTA GCCCCGCGGGGAGCCCTACAAGCACTGAGGAGGGCACATCTGAGTCCGCTAC CCCTGAGAGTGGACCCGGGACAAGCACTGAGCCTAGCGAAGGAAGCGCACCA GGTTCCCCCGCTGGGAGCCCCACAAGCACAGAAGAGGGAACTTCTACCGAGC CCTCTGAGGGCTCAGCCCCTGGAACTAGCACAGAGCCCTCCGAAGGCAGTGC ACCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCT GCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTG AAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTC TGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAG GGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTT CTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAG CGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCT GGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAAC CAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGG CCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACT GAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTT CCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTC TGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACC TCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCT CCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGAC TCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCA GGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAAC CTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGC ACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACC GAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCA CCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAG CGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGT TCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTT CAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCAC GCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCG GGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTT CTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGA GGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAG TCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCT CTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGA ACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCT GAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTA CCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAG CGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAG GGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAA CGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGG TCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCA GGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTA GTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAG CGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCT GAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCC AACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGA CGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGG TCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCGCCGCAGAACCAGAGGCG	VSWFAYWGQGTLVTVSS GTAEAASASGEAGRSAN HTPAGLTGPPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGSETPG SPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTE PSEGAAEPEA
AC1948	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTTCCCCAGCAGGCAGCCCGACCAGCACCGAGGAGGG TACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCGGGTACCTCTACGGAACCG TCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCGCGACGCCGGAAAGCGGTC CAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAACGCCTGGTACCTCGGAGTC AGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCTGCAACGAGCGGTAGCGAG	SPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPS

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	ACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGTCGGGTCCGGGCACCTCTA	EGSAPGSPAGSPTSTEE
	CGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCGACGTC	GTSESATPESGPGSEPA
	AACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCTGAGTCGGGCCCTGGCAGC	TSGSETPGTSESATPES
	GAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTACCAGCGAGTCTGCTACGC	GPGSPAGSPTSTEEGSP
	CAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCCGACTAGCACGGAGGAGGG	AGSPTSTEEGTSTEPSE
	CAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAGGGTACGTCCACCGAACCG	GSAPGTSESATPESGPG
	AGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTGCCACCCCTGAATCCGGTC	TSESATPESGPGTSESA
	CAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGGTCCAGGTACGAGCGAATC	TPESGPGSEPATSGSET
	TGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCTGCTACTAGCGGCAGCGAA	PGSEPATSGSETPGSPA
	ACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCGAGACGCCGGGTTCCCCTG	GSPTSTEEGTSTEPSEG
	CAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTCCACCGAACCATCAGAAGG	SAPGTSTEPSEGSAPGG
	TAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCGGGTGGC	SAPEAGRSANHTPAGLT
	TCAGCGCCTGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATACCCCAGCGGGGCTGACTG	GPATSGSETPGTDIQMT
	GGCCTGCTACCTCAGGCTCCGAAACCCCGGGCACCGATATCCAGATGACCCA	QSPSSLSASVGDRVTIT
	GAGCCCTTCTTCCCTGTCCGCATCCGTCGGCGATCGTGTCACGATTACCTGT	CRSTKSLLHSNGITYLY
	CGCAGCACTAAGAGCCTGCTGCACTCAAACGGTATCACGTACCTGTACTGGT	WYQQKPGKAPKLLIYQM
	ACCAGCAGAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATTTATCAGATGAGCAA	SNLASGVPSRFSSSGSG
	CCTGGCATCGGGCGTGCCGAGCCGTTTCAGCAGCAGCGGTAGCGGTACCGAC	TDFTLTISSLQPEDFAT
	TTCACGCTGACCATCAGCTCGTTGCAGCCAGAGGACTTTGCGACGTACTATT	YYCAQNLEIPRTFGQGT
	GTGCGCAAAACTTGGAAATTCCGCGCACCTTCGGCCAGGGTACGAAAGTTGA	KVEIKGATPPETGAETE
	GATTAAAGGTGCCACCCCACCGGAGACTGGTGCAGAAACCGAGTCTCCGGGC	SPGETTGGSAESEPPGE
	GAAACCACGGGCGGTAGCGCGGAGAGCGAACCGCCTGGTGAGGGTCAAGTTC	GQVQLVQSGPGLVQPGG
	AATTGGTTCAGAGCGGTCCGGGTCTGGTTCAACCGGGCGGCAGCGTGCGCAT	SVRISCAASGYTFTNYG
	TTCTTGTGCGGCCAGCGGTTACACCTTTACGAACTACGGTATGAATTGGGTG	MNWVKQAPGKGLEWMGW
	AAACAAGCTCCGGGCAAAGGTCTGGAGTGGATGGGTTGGATCAATACCTATA	INTYTGESTYADSFKGR
	CCGGTGAATCCACTTACGCGGATTCCTTTAAGGGCCGTTTCACCTTCAGCCT	FTFSLDTSASAAYLQIN
	GGACACGAGCGCGAGCGCTGCATATCTGCAAATCAATAGCCTGCGTGCCGAA	SLRAEDTAVYYCARFAI
	GATACCGCGGTGTACTATTGCGCGCGTTTTGCAATCAAGGGCGACTATTGGG	KGDYWGQGTLLTVSSGG
	GTCAAGGCACGCTGCTGACCGTGAGCAGCGGTGGTGGCGGCAGCGATATCCA	GGSDIQMTQSPSSLPAS
	GATGACCCAAAGCCCGAGCAGCCTGCCGGCGAGCCTGGGTGACCGTGTGACC	LGDRVTINCQASQDISN
	ATCAACTGCCAGGCGAGCCAAGATATTAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGC	YLNWYQQKPGKAPKLLI
	AAAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATTTACTATACCAACAAGCTGGC	YYTNKLADGVPSRFSGS
	GGATGGTGTTCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGCAGCGGTCGTGACAGCAGC	GSGRDSSFTISSLESED
	TTTACCATCAGCAGCCTGGAGAGCGAAGATATTGGTAGCTACTATTGCCAAC	IGSYYCQQYYNYPWTFG
	AATACTACAACTATCCGTGGACCTTCGGTCCGGGCACCAAACTGGAAATCAA	PGTKLEIKGATPPETGA
	AGGTGCGACCCCGCCGGAAACCGGTGCGGAAACCGAAAGCCCGGGTGAAACC	ETESPGETTGGSAESEP
	ACCGGTGGCAGCGCGGAGAGCGAACCGCCGGGTGAAGGTGAAGTGCAACTGG	PGEGEVQLVESGGGLVQ
	TGGAGAGCGGTGGTGGTCTGGTGCAACCGGGCAAGAGCCTGAAACTGAGCTG	PGKSLKLSCEASGFTFS
	CGAAGCGAGCGGCTTTACCTTTAGCGGTTATGGTATGCATTGGGTGCGTCAG	GYGMHWVRQAPGRGLES
	GCGCCGGGTCGTGGCCTGGAGAGCGTTGCGTACATCACCAGCAGCAGCATCA	VAYITSSSINIKYADAV
	ACATTAAATATGCGGACGCGGTGAAGGGCCGTTTCACCGTTAGCCGTGATAA	KGRFTVSRDNAKNLLFL
	CGCGAAAAACCTGCTGTTTCTGCAGATGAACATTCTGAAGAGCGAGGACACC	QMNILKSEDTAMYYCAR
	GCGATGTACTATTGCGCGCGTTTCGACTGGGATAAAAACTATTGGGGTCAAG	FDWDKNYWGQGTMVTVS
	GCACCATGGTGACCGTTAGCAGCGGCACCGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGG	SGTAEAASASGEAGRSA
	CGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATACCCCAGCGGGGCTGACTGGGCCTCCA	NHTPAGLTGPPGSPAGS
	GGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCAGTACTGAAGAAGGTACCTCTGAATCCG	PTSTEEGTSESATPESG
	CTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGC	PGTSTEPSEGSAPGSPA
	TCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC	GSPTSTEEGTSTEPSEG
	GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCA	SAPGTSTEPSEGSAPGT
	GTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGA	SESATPESGPGSEPATS
	GCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGT	GSETPGSEPATSGSETP
	TCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTA	GSPAGSPTSTEEGTSES
	CCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAG	ATPESGPGTSTEPSEGS
	CGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCG	APGTSTEPSEGSAPGSP
	GGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAAC	AGSPTSTEEGTSTEPSE
	CTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGC	GSAPGTSTEPSEGSAPG
	ACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACG	TSESATPESGPGTSTEP
	GAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAAT	SEGSAPGTSESATPESG
	CTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTC	PGSEPATSGSETPGTST
	CACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAA	EPSEGSAPGTSTEPSEG
	GGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCA	SAPGTSESATPESGPGT

Название конструкции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	CCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCC AACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCT GGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTG CGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACG GAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTT CAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAG CACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACA AGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTA CAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAG CGGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCA GGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAG CCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGC ACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCA GGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTA CGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTC TGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAA GGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTT CTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAAC GCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCA GGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGC CTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGA GGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCT GCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAA GCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACC GGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAG GGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCA CCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCAC TCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCT GGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCA GCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGC CCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCT GCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAAT CCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCA TCATCACCATCAC	SESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGHHHHHH
AC1952	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTTCCCCAGCAGGCAGCCCGACCAGCACCGAGGAGGG TACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCGGGTACCTCTACGGAACCG TCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCGCGACGCCGGAAAGCGGTC CAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAACGCCTGGTACCTCGGAGTC AGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCTGCAACGAGCGGTAGCGAG ACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGTCGGGTCCGGGCACCTCTA CGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCGACGTC AACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCTGAGTCGGGCCCTGGCAGC GAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTACCAGCGAGTCTGCTACGC CAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCCGACTAGCACGGAGGAGGG CAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAGGGTACGTCCACCGAACCG AGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTGCCACCCCTGAATCCGGTC CAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGGTCCAGGTACGAGCGAATC TGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCTGCTACTAGCGGCAGCGAA ACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCGAGACGCCGGGTTCCCCTG CAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTCCACCGAACCATCAGAAGG TAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCGGGTGGC TCAGCGCCTGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATACCCCAGCGGGGCTGACTG GGCCTGCTACCTCAGGCTCCGAAACCCCGGGCACCGATATCCAGATGACCCA GAGCCCTTCTTCCCTGTCCGCATCCGTCGGCGATCGTGTCACGATTACCTGT CGCAGCACTAAGAGCCTGCTGCACTCAAACGGTATCACGTACCTGTACTGGT ACCAGCAGAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATTTATCAGATGAGCAA CCTGGCATCGGGCGTGCCGAGCCGTTTCAGCAGCAGCGGTAGCGGTACCGAC TTCACGCTGACCATCAGCTCGTTGCAGCCAGAGGACTTTGCGACGTACTATT	SPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSESA TPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGG SAPEAGRSANHTPAGLT GPATSGSETPGTDIQMT QSPSSLSASVGDRVTIT CRSTKSLLHSNGITYLY WYQQKPGKAPKLLIYQM SNLASGVPSRFSSSGSG TDFTLTISSLQPEDFAT YYCAQNLEIPRTFGQGT

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	GTGCGCAAAACTTGGAAATTCCGCGCACCTTCGGCCAGGGTACGAAAGTTGA	KVEIKGATPPETGAETE
	GATTAAAGGTGCCACCCCACCGGAGACTGGTGCAGAAACCGAGTCTCCGGGC	SPGETTGGSAESEPPGE
	GAAACCACGGGCGGTAGCGCGGAGAGCGAACCGCCTGGTGAGGGTCAAGTTC	GQVQLVQSGPGLVQPGG
	AATTGGTTCAGAGCGGTCCGGGTCTGGTTCAACCGGGCGGCAGCGTGCGCAT	SVRISCAASGYTFTNYG
	TTCTTGTGCGGCCAGCGGTTACACCTTTACGAACTACGGTATGAATTGGGTG	MNWVKQAPGKGLEWMGW
	AAACAAGCTCCGGGCAAAGGTCTGGAGTGGATGGGTTGGATCAATACCTATA	INTYTGESTYADSFKGR
	CCGGTGAATCCACTTACGCGGATTCCTTTAAGGGCCGTTTCACCTTCAGCCT	FTFSLDTSASAAYLQIN
	GGACACGAGCGCGAGCGCTGCATATCTGCAAATCAATAGCCTGCGTGCCGAA	SLRAEDTAVYYCARFAI
	GATACCGCGGTGTACTATTGCGCGCGTTTTGCAATCAAGGGCGACTATTGGG	KGDYWGQGTLLTVSSGG
	GTCAAGGCACGCTGCTGACCGTGAGCAGCGGTGGTGGCGGCAGCGAGTTAGT	GGSELVVTQEPSLTVSP
	TGTGACCCAAGAGCCGAGCCTGACCGTTAGCCCGGGTGGTACGGTCACCCTG	GGTVTLTCRSSTGAVTT
	ACGTGCCGTAGCAGCACCGGTGCGGTCACGACCAGCAACTATGCCAATTGGG	SNYANWVQQKPGQAPRG
	TCCAGCAGAAACCGGGTCAAGCACCGCGTGGCCTGATCGGCGGCACCAATAA	LIGGTNKRAPGTPARFS
	ACGTGCCCCGGGTACTCCTGCGCGTTTCTCCGGTAGCCTGCTGGGCGGCAAA	GSLLGGKAALTLSGVQP
	GCCGCTCTGACCCTGAGCGGTGTCCAGCCGGAAGATGAAGCGGAGTACTACT	EDEAEYYCALWYSNLWV
	GCGCGCTGTGGTATTCCAATCTGTGGGTTTTTGGCGGCGGTACCAAGCTGAC	FGGGTKLTVLGATPPET
	CGTATTGGGTGCTACGCCACCGGAGACTGGCGCAGAAACGGAAAGCCCGGGT	GAETESPGETTGGSAES
	GAGACTACGGGTGGCTCTGCGGAGAGCGAACCTCCGGGTGAGGGTGAGGTCC	EPPGEGEVQLLESGGGL
	AACTGCTGGAGTCTGGTGGTGGCCTGGTTCAACCGGGTGGCTCGTTGAAGCT	VQPGGSLKLSCAASGFT
	GAGCTGTGCAGCTAGCGGCTTTACCTTCAACACCTATGCGATGAATTGGGTT	FNTYAMNWVRQAPGKGL
	CGTCAGGCACCGGGTAAGGGCCTGGAATGGGTGGCGCGTATCCGCTCCAAGT	EWVARIRSKYNNYATYY
	ACAACAACTACGCGACCTACTACGCGGATAGCGTTAAAGACCGCTTCACGAT	ADSVKDRFTISRDDSKN
	TAGCCGTGACGATTCCAAGAATACGGCATATCTGCAAATGAACAATCTGAAA	TAYLQMNNLKTEDTAVY
	ACCGAAGATACCGCGGTGTATTACTGTGTGCGCCACGGCAATTTCGGCAACA	YCVRHGNFGNSYVSWFA
	GCTACGTGAGCTGGTTTGCATATTGGGGTCAGGGCACCCTGGTTACGGTGAG	YWGQGTLVTVSSGTAEA
	CTCCGGCACCGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCGAGGCAGGTCGTTCTGCT	ASASGEAGRSANHTPAG
	AACCATACCCCAGCGGGGCTGACTGGGCCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCC	LTGPPGSPAGSPTSTEE
	CAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTCC	GTSESATPESGPGTSTE
	TGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGT	PSEGSAPGSPAGSPTST
	AGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCG	EEGTSTEPSEGSAPGTS
	CTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA	TEPSEGSAPGTSESATP
	AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCT	ESGPGSEPATSGSETPG
	GAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCAC	SEPATSGSETPGSPAGS
	CGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCC	PTSTEEGTSESATPESG
	TGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGT	PGTSTEPSEGSAPGTST
	ACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCC	EPSEGSAPGSPAGSPTS
	CTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCC	TEEGTSTEPSEGSAPGT
	AGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCT	STEPSEGSAPGTSESAT
	GCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCG	PESGPGTSTEPSEGSAP
	CCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCC	GTSESATPESGPGSEPA
	AGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGT	TSGSETPGTSTEPSEGS
	AGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGT	APGTSTEPSEGSAPGTS
	CTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCC	ESATPESGPGTSESATP
	TGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGC	ESGPGSPAGSPTSTEEG
	ACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGCTACCT	TSESATPESGPGSEPAT
	CTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCC	SGSETPGTSESATPESG
	GGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAG	PGTSTEPSEGSAPGTST
	CCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTG	EPSEGSAPGTSTEPSEG
	CGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCAC	SAPGTSTEPSEGSAPGT
	GGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT	STEPSEGSAPGTSTEPS
	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCA	EGSAPGSPAGSPTSTEE
	GCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCC	GTSTEPSEGSAPGTSES
	TGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGC	ATPESGPGSEPATSGSE
	ACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGA	TPGTSESATPESGPGSE
	GCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCC	PATSGSETPGTSESATP
	GGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGC	ESGPGTSTEPSEGSAPG
	GCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCG	TSESATPESGPGSPAGS
	AAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGC	PTSTEEGSPAGSPTSTE
	AGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAA	EGSPAGSPTSTEEGTSE
	AGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTT	SATPESGPGTSTEPSEG
	CTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGG	SAPGTSESATPESGPGS

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	CTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGT TCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGA CTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACC AGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCT GCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAA CCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGC TGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGC ACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCC TGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGT AGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCA GCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGA GGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAA CCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAA CGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCAC CGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCACCATCAC	EPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGS PAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGS APGHHHHHH
AC2084	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTCACCATCATCACCATCACTCCCCAGCAGGCAGCCC GACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCG GGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCG CGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAAC GCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCT GCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGT CGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCC TGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCT GAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTA CCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCC GACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAG GGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTG CCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGG TCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCT GCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCG AGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTC CACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAG GGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGCCTGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATA CCCCTGCAGGATTAACTGGCCCCGCCACCAGCGGGAGCGAGACCCCCGGGAC TGACATCCAGATGACCCAAAGCCCGGCGAGCCTGAGCGCGAGCCTGGGTGAA ACCGTGAGCATCGAATGCCTGGCGAGCGAGGGTATTAGCAACGACCTGGCGT GGTACCAGCAAAAGAGCGGCAAAAGCCCGCAGCTGCTGATCTATGCGACCAG CCGTCTGCAAGATGGTGTTCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACC CGTTACAGCCTGAAGATTAGCGGTATGCAGCCGGAGGACGAAGCGGATTATT TCTGCCAGCAAAGCTACAAATATCCGTGGACCTTTGGTGGCGGTACCAAGCT GGAACTGAAAGGTGCAACGCCTCCGGAGACTGGTGCTGAAACTGAGTCCCCG GGCGAGACGACCGGTGGCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCGAAG TTCAGCTGGCGGAAAGCGGCGGTGGCCTGGTGCAACCGGGCCGTAGCATGAA GCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTTCACCTTTAGCAACTTCCCGATGGCGTGG GTTCGTCAAGCGCCGACCAAAGGCCTGGAATGGGTGGCGACCATCAGCACCA GCGGTGGCAGCACCTACTATCGTGACAGCGTTAAGGGTCGTTTTACCATTAG CCGTGATAACGCGAAAAGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGTAGC GAGGACACCGCGACCTACTATTGCACCCGTACCCTGTATATTCTGCGTGTGT TCTACTTTGATTATTGGGGCCAAGGTGTGATGGTTACCGTGAGCAGCGGTGG TGGCGGCAGCGAGTTAGTTGTGACCCAAGAGCCGAGCCTGACCGTTAGCCCG GGTGGTACGGTCACCCTGACGTGCCGTAGCAGCACCGGTGCGGTCACGACCA GCAACTATGCCAATTGGGTCCAGCAGAAACCGGGTCAAGCACCGCGTGGCCT GATCGGCGGCACCAATAAACGTGCCCCGGGTACTCCTGCGCGTTTCTCCGGT AGCCTGCTGGGCGGCAAAGCCGCTCTGACCCTGAGCGGTGTCCAGCCGGAAG ATGAAGCGGAGTACTACTGCGCGCTGTGGTATTCCAATCTGTGGGTTTTTGG CGGCGGTACCAAGCTGACCGTATTGGGTGCTACGCCACCGGAGACTGGCGCA GAAACGGAAAGCCCGGGTGAGACTACGGGTGGCTCTGCGGAGAGCGAACCTC	HHHHHHSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGGSAPEAGRSANH TPAGLTGPATSGSETPG TDIQMTQSPASLSASLG ETVSIECLASEGISNDL AWYQQKSGKSPQLLIYA TSRLQDGVPSRFSGSGS GTRYSLKISGMQPEDEA DYFCQQSYKYPWTFGGG TKLELKGATPPETGAET ESPGETTGGSAESEPPG EGEVQLAESGGGLVQPG RSMKLSCAASGFTFSNF PMAWVRQAPTKGLEWVA TISTSGGSTYYRDSVKG RFTISRDNAKSTLYLQM NSLRSEDTATYYCTRTL YILRVFYFDYWGQGVMV TVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSS TGAVTTSNYANWVQQKP GQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLG ATPPETGAETESPGETT GGSAESEPPGEGEVQLL

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	CGGGTGAGGGTGAGGTCCAACTGCTGGAGTCTGGTGGTGGCCTGGTTCAACC	ESGGGLVQPGGSLKLSC
	GGGTGGCTCGTTGAAGCTGAGCTGTGCAGCTAGCGGCTTTACCTTCAACACC	AASGFTFNTYAMNWVRQ
	TATGCGATGAATTGGGTTCGTCAGGCACCGGGTAAGGGCCTGGAATGGGTGG	APGKGLEWVARIRSKYN
	CGCGTATCCGCTCCAAGTACAACAACTACGCGACCTACTACGCGGATAGCGT	NYATYYADSVKDRFTIS
	TAAAGACCGCTTCACGATTAGCCGTGACGATTCCAAGAATACGGCATATCTG	RDDSKNTAYLQMNNLKT
	CAAATGAACAATCTGAAAACCGAAGATACCGCGGTGTATTACTGTGTGCGCC	EDTAVYYCVRHGNFGNS
	ACGGCAATTTCGGCAACAGCTACGTGAGCTGGTTTGCATATTGGGGTCAGGG	YVSWFAYWGQGTLVTVS
	CACCCTGGTGACCGTTAGCAGCGGCACCGCCGAAGCGGCTAGCGCCTCCGGA	SGTAEAASASGEAGRSA
	GAAGCTGGAAGAAGCGCCAATCACACACCAGCTGGACTTACAGGCCCGCCTG	NHTPAGLTGPPGSPAGS
	GTAGCCCCGCGGGGAGCCCTACAAGCACTGAGGAGGGCACATCTGAGTCCGC	PTSTEEGTSESATPESG
	TACCCCTGAGAGTGGACCCGGGACAAGCACTGAGCCTAGCGAAGGAAGCGCA	PGTSTEPSEGSAPGSPA
	CCAGGTTCCCCCGCTGGGAGCCCCACAAGCACAGAAGAGGGAACTTCTACCG	GSPTSTEEGTSTEPSEG
	AGCCCTCTGAGGGCTCAGCCCCTGGAACTAGCACAGAGCCCTCCGAAGGCAG	SAPGTSTEPSEGSAPGT
	TGCACCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAG	SESATPESGPGSEPATS
	CCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTT	GSETPGSEPATSGSETP
	CTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTAC	GSPAGSPTSTEEGTSES
	CTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGC	ATPESGPGTSTEPSEGS
	GAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGG	APGTSTEPSEGSAPGSP
	GTTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACC	AGSPTSTEEGTSTEPSE
	TAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCA	GSAPGTSTEPSEGSAPG
	CCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGG	TSESATPESGPGTSTEP
	AACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATC	SEGSAPGTSESATPESG
	TGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCC	PGSEPATSGSETPGTST
	ACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAG	EPSEGSAPGTSTEPSEG
	GTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCAC	SAPGTSESATPESGPGT
	CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCA	SESATPESGPGSPAGSP
	ACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTG	TSTEEGTSESATPESGP
	GCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGC	GSEPATSGSETPGTSES
	GACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCA	ATPESGPGTSTEPSEGS
	CCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGG	APGTSTEPSEGSAPGTS
	AACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC	TEPSEGSAPGTSTEPSE
	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGC	GSAPGTSTEPSEGSAPG
	ACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAA	TSTEPSEGSAPGSPAGS
	GCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTAC	PTSTEEGTSTEPSEGSA
	AAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGC	PGTSESATPESGPGSEP
	GGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAG	ATSGSETPGTSESATPE
	GTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGC	SGPGSEPATSGSETPGT
	CACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCA	SESATPESGPGTSTEPS
	CCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAG	EGSAPGTSESATPESGP
	GTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTAC	GSPAGSPTSTEEGSPAG
	GGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCT	SPTSTEEGSPAGSPTST
	GAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAG	EEGTSESATPESGPGTS
	GCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTC	TEPSEGSAPGTSESATP
	TGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACG	ESGPGSEPATSGSETPG
	CCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAG	TSESATPESGPGSEPAT
	GTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCC	SGSETPGTSESATPESG
	TAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAG	PGTSTEPSEGSAPGSPA
	GAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTG	GSPTSTEEGTSESATPE
	CAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAG	SGPGSEPATSGSETPGT
	CGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG	SESATPESGPGSPAGSP
	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGG	TSTEEGSPAGSPTSTEE
	GTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCAC	GTSTEPSEGSAPGTSES
	CAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACT	ATPESGPGTSESATPES
	CCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTG	GPGTSESATPESGPGSE
	GTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAG	PATSGSETPGSEPATSG
	CCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCC	SETPGSPAGSPTSTEEG
	CCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTG	TSTEPSEGSAPGTSTEP
	CGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATC	SEGSAPGSEPATSGSET
	CGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCGCCGCAGAACCAGAGGCG	PGTSESATPESGPGTST
		EPSEGAAEPEA

Название конструкции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
AC2078	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG	HHHHHHSPAGSPTSTEE
	CTACAAACGCGTACGCTCACCATCATCACCATCACTCCCCAGCAGGCAGCCC	GTSESATPESGPGTSTE
	GACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCG	PSEGSAPGTSESATPES
	GGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCG	GPGSEPATSGSETPGTS
	CGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAAC	ESATPESGPGSEPATSG
	GCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCT	SETPGTSESATPESGPG
	GCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGT	TSTEPSEGSAPGSPAGS
	CGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCC	PTSTEEGTSESATPESG
	TGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCT	PGSEPATSGSETPGTSE
	GAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTA	SATPESGPGSPAGSPTS
	CCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCC	TEEGSPAGSPTSTEEGT
	GACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAG	STEPSEGSAPGTSESAT
	GGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTG	PESGPGTSESATPESGP
	CCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGG	GTSESATPESGPGSEPA
	TCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCT	TSGSETPGSEPATSGSE
	GCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCG	TPGSPAGSPTSTEEGTS
	AGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTC	TEPSEGSAPGTSTEPSE
	CACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAG	GSAPGGSAPEAGRSANH
	GGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGCCTGAGGCAGGTCGTTCTGCTAACCATA	TPAGLTGPATSGSETPG
	CCCCTGCAGGATTAACTGGCCCCGCCACCAGCGGGAGCGAGACCCCCGGGAC	TDIQMTQSPASLSASLG
	TGACATCCAGATGACCCAAAGCCCGGCGAGCCTGAGCGCGAGCCTGGGTGAA	ETVSIECLASEGISNDL
	ACCGTGAGCATCGAATGCCTGGCGAGCGAGGGTATTAGCAACGACCTGGCGT	AWYQQKSGKSPQLLIYA
	GGTACCAGCAAAAGAGCGGCAAAAGCCCGCAGCTGCTGATCTATGCGACCAG	TSRLQDGVPSRFSGSGS
	CCGTCTGCAAGATGGTGTTCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACC	GTRYSLKISGMQPEDEA
	CGTTACAGCCTGAAGATTAGCGGTATGCAGCCGGAGGACGAAGCGGATTATT	DYFCQQSYKYPWTFGGG
	TCTGCCAGCAAAGCTACAAATATCCGTGGACCTTTGGTGGCGGTACCAAGCT	TKLELKGATPPETGAET
	GGAACTGAAAGGTGCAACGCCTCCGGAGACTGGTGCTGAAACTGAGTCCCCG	ESPGETTGGSAESEPPG
	GGCGAGACGACCGGTGGCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCGAAG	EGEVQLAESGGGLVQPG
	TTCAGCTGGCGGAAAGCGGCGGTGGCCTGGTGCAACCGGGCCGTAGCATGAA	RSMKLSCAASGFTFSNF
	GCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTTCACCTTTAGCAACTTCCCGATGGCGTGG	PMAWVRQAPTKGLEWVA
	GTTCGTCAAGCGCCGACCAAAGGCCTGGAATGGGTGGCGACCATCAGCACCA	TISTSGGSTYYRDSVKG
	GCGGTGGCAGCACCTACTATCGTGACAGCGTTAAGGGTCGTTTTACCATTAG	RFTISRDNAKSTLYLQM
	CCGTGATAACGCGAAAAGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGTAGC	NSLRSEDTATYYCTRTL
	GAGGACACCGCGACCTACTATTGCACCCGTACCCTGTATATTCTGCGTGTGT	YILRVFYFDYWGQGVMV
	TCTACTTTGATTATTGGGGCCAAGGTGTGATGGTTACCGTGAGCAGCGGTGG	TVSSGGGGSDIQMTQSP
	TGGCGGCAGCGATATCCAGATGACCCAAAGCCCGAGCAGCCTGCCGGCGAGC	SSLPASLGDRVTINCQA
	CTGGGTGACCGTGTGACCATCAACTGCCAGGCGAGCCAAGATATTAGCAACT	SQDISNYLNWYQQKPGK
	ACCTGAACTGGTATCAGCAAAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATTTA	APKLLIYYTNKLADGVP
	CTATACCAACAAGCTGGCGGATGGTGTTCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGC	SRFSGSGSGRDSSFTIS
	AGCGGTCGTGACAGCAGCTTTACCATCAGCAGCCTGGAGAGCGAAGATATTG	SLESEDIGSYYCQQYYN
	GTAGCTACTATTGCCAACAATACTACAACTATCCGTGGACCTTCGGTCCGGG	YPWTFGPGTKLEIKGAT
	CACCAAACTGGAAATCAAAGGTGCGACCCCGCCGGAAACCGGTGCGGAAACC	PPETGAETESPGETTGG
	GAAAGCCCGGGTGAAACCACCGGTGGCAGCGCGGAGAGCGAACCGCCGGGTG	SAESEPPGEGEVQLVES
	AAGGTGAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGTGGTCTGGTGCAACCGGGCAA	GGGLVQPGKSLKLSCEA
	GAGCCTGAAACTGAGCTGCGAAGCGAGCGGCTTTACCTTTAGCGGTTATGGT	SGFTFSGYGMHWVRQAP
	ATGCACTGGGTGCGTCAGGCGCCGGGTCGTGGCCTGGAGAGCGTTGCGTACA	GRGLESVAYITSSSINI
	TCACCAGCAGCAGCATCAACATTAAATATGCGGACGCGGTGAAGGGCCGTTT	KYADAVKGRFTVSRDNA
	CACCGTTAGCCGTGATAACGCGAAAAACCTGCTGTTTCTGCAGATGAACATT	KNLLFLQMNILKSEDTA
	CTGAAGAGCGAGGACACCGCGATGTACTATTGCGCGCGTTTCGACTGGGATA	MYYCARFDWDKNYWGQG
	AAAACTATTGGGGTCAAGGCACCATGGTGACCGTTAGCAGCGGCACCGCCGA	TMVTVSSGTAEAASASG
	AGCGGCTAGCGCCTCCGGAGAAGCTGGAAGAAGCGCCAATCACACACCAGCT	EAGRSANHTPAGLTGPP
	GGACTTACAGGCCCGCCTGGTAGCCCCGCGGGGAGCCCTACAAGCACTGAGG	GSPAGSPTSTEEGTSES
	AGGGCACATCTGAGTCCGCTACCCCTGAGAGTGGACCCGGGACAAGCACTGA	ATPESGPGTSTEPSEGS
	GCCTAGCGAAGGAAGCGCACCAGGTTCCCCCGCTGGGAGCCCCACAAGCACA	APGSPAGSPTSTEEGTS
	GAAGAGGGAACTTCTACCGAGCCCTCTGAGGGCTCAGCCCCTGGAACTAGCA	TEPSEGSAPGTSTEPSE
	CAGAGCCCTCCGAAGGCAGTGCACCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGA	GSAPGTSESATPESGPG
	ATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGC	SEPATSGSETPGSEPAT
	GAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGA	SGSETPGSPAGSPTSTE
	CGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGG	EGTSESATPESGPGTST
	CACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCG	EPSEGSAPGTSTEPSEG
	TCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAG	SAPGSPAGSPTSTEEGT

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	AGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGA ACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGC GGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTG AATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTC TGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACT TCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCC CTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGG CTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCT ACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGA GCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCT GCACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCA CTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGG CTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGC CCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCG AAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGG TAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCG ACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGC CGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGA ACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGC GGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTG CTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTC TACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACC TCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTC CAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGG CACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACT TCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTC CTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGG TAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCG GGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTC TACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACT AGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGC CAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGG TACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACC TCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTC CGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGA ACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCT GCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCG AAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGG CGCCGCAGAACCAGAGGCG	STEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSEPA TSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGAAEPEA
AC1976	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTCACCATCATCACCATCACTCCCCAGCAGGCAGCCC GACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCG GGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCG CGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAAC GCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCT GCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGT CGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCC TGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCT GAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTA CCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCC GACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAG GGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTG CCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGG TCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCT GCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCG AGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTC CACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAG GGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGCCTGAATCTGGTCGTGCAGCTAACACCG	HHHHHHSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGGSAPESGRAANT EPPELGAGATSGSETPG

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	AACCTCCCGAGCTCGGGGCCGGCGCCACCTCAGGTAGCGAGACCCCCGGGAC	TDIQMTQSPSSLSASVG
	CGATATCCAAATGACACAGTCCCCTTCTTCTCTGAGCGCCTCTGTTGGCGAT	DRVTITCQASQDISNYL
	AGAGTGACAATCACCTGTCAGGCTTCTCAAGATATAAGCAATTACCTGAACT	NWYQQKPGKAPKLLIYD
	GGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAAGCCCCTAAACTGCTGATCTACGATGCCAG	ASNLETGVPSRFSGSGS
	CAATCTGGAAACAGGAGTTCCTAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCTGGAACC	GTDFTFTISSLQPEDIA
	GATTTCACATTCACCATCAGCTCTTTACAGCCAGAGGATATCGCTACTTACT	TYFCQHFDHLPLAFGGG
	TTTGCCAGCACTTCGACCACCTGCCTCTGGCTTTTGGCGGTGGTACAAAAGT	TKVEIKGATPPETGAET
	GGAGATCAAAGGGGCCACACCCCCAGAGACTGGGGCAGAGACTGAGTCCCCC	ESPGETTGGSAESEPPG
	GGCGAGACAACAGGTGGTTCCGCCGAGAGTGAACCACCCGGAGAAGGACAGG	EGQVQLQESGPGLVKPS
	TCCAGCTCCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTCAAGCCATCTGAAACCCTCTC	ETLSLTCTVSGGSVSSG
	TCTGACGTGCACCGTTAGCGGCGGTAGTGTGTCCTCAGGCGACTACTACTGG	DYYWTWIRQSPGKGLEW
	ACATGGATCAGACAGTCCCCTGGCAAAGGATTGGAGTGGATCGGACACATTT	IGHIYYSGNTNYNPSLK
	ATTACAGCGGCAACACTAATTATAATCCTAGCCTGAAGTCTAGACTGACCAT	SRLTISIDTSKTQFSLK
	CAGCATCGACACCAGCAAGACCCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGTAGTGTTACC	LSSVTAADTAIYYCVRD
	GCGGCTGACACCGCGATCTATTATTGCGTTCGGGACAGAGTGACAGGCGCCT	RVTGAFDIWGQGTMVTV
	TTGATATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACTGTGAGCAGCGGGGGGGGCGG	SSGGGGSELVVTQEPSL
	AAGTGAGTTGGTCGTTACACAAGAGCCAAGCTTGACCGTGTCCCCGGGTGGC	TVSPGGTVTLTCRSSTG
	ACAGTAACCCTCACCTGCCGATCCTCAACAGGAGCTGTGACCACCAGCAACT	AVTTSNYANWVQQKPGQ
	ATGCAAATTGGGTGCAACAAAAACCTGGTCAGGCACCGCGTGGACTTATTGG	APRGLIGGTNKRAPGTP
	AGGCACCAACAAAAGAGCACCTGGGACACCGGCCCGGTTTTCCGGTAGCCTG	ARFSGSLLGGKAALTLS
	CTTGGTGGCAAGGCCGCCCTCACATTATCTGGAGTGCAGCCTGAGGATGAAG	GVQPEDEAEYYCALWYS
	CCGAGTACTACTGCGCATTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTTGGGGGCGG	NLWVFGGGTKLTVLGAT
	AACCAAGTTGACCGTCCTGGGAGCTACCCCCCCCGAAACTGGGGCCGAAACG	PPETGAETESPGETTGG
	GAATCTCCTGGTGAAACTACAGGGGGAAGTGCAGAGAGCGAGCCACCAGGAG	SAESEPPGEGEVQLLES
	AGGGCGAAGTCCAGCTGCTCGAATCCGGAGGCGGACTCGTGCAGCCAGGAGG	GGGLVQPGGSLKLSCAA
	AAGTCTTAAGCTCTCATGCGCCGCTAGCGGCTTTACCTTCAACACATACGCC	SGFTFNTYAMNWVRQAP
	ATGAATTGGGTCCGACAGGCTCCCGGTAAAGGGCTGGAATGGGTGGCTCGAA	GKGLEWVARIRSKYNNY
	TACGTTCGAAGTACAACAATTACGCTACTTACTACGCCGACAGCGTGAAGGA	ATYYADSVKDRFTISRD
	CCGATTCACCATTAGTCGGGACGATAGCAAGAATACAGCCTACCTGCAGATG	DSKNTAYLQMNNLKTED
	AACAACCTGAAGACCGAGGATACCGCGGTCTACTATTGTGTGCGCCATGGCA	TAVYYCVRHGNFGNSYV
	ATTTTGGCAACAGCTATGTGAGCTGGTTTGCCTATTGGGGCCAAGGCACACT	SWFAYWGQGTLVTVSSG
	GGTTACCGTCTCATCTGGGACCGCTGAAGCCGCTAGCGCTTCTGGGGAATCA	TAEAASASGESGRAANT
	GGAAGAGCCGCCAATACTGAACCCCCCGAGCTGGGCGCTGGCCCAGGTTCCC	EPPELGAGPGSPAGSPT
	CCGCGGGGTCCCCCACTTCTACTGAAGAGGGCACTTCCGAGAGCGCTACTCC	STEEGTSESATPESGPG
	AGAGTCTGGCCCCGGAACATCCACTGAGCCTAGCGAGGGGTCGGCACCTGGG	TSTEPSEGSAPGSPAGS
	TCACCCGCTGGCTCCCCAACTTCCACCGAGGAAGGGACATCAACCGAACCCT	PTSTEEGTSTEPSEGSA
	CTGAGGGCTCCGCCCCCGGTACTTCCACGGAGCCTAGTGAAGGCAGTGCCCC	PGTSTEPSEGSAPGTSE
	GGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCT	SATPESGPGSEPATSGS
	ACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAAA	ETPGSEPATSGSETPGS
	CTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGA	PAGSPTSTEEGTSESAT
	GTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGT	PESGPGTSTEPSEGSAP
	TCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTC	GTSTEPSEGSAPGSPAG
	CGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGA	SPTSTEEGTSTEPSEGS
	GGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC	APGTSTEPSEGSAPGTS
	ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAA	ESATPESGPGTSTEPSE
	GCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCC	GSAPGTSESATPESGPG
	GGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAA	SEPATSGSETPGTSTEP
	CCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCG	SEGSAPGTSTEPSEGSA
	CTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGA	PGTSESATPESGPGTSE
	AAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCC	SATPESGPGSPAGSPTS
	ACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCG	TEEGTSESATPESGPGS
	AACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCC	EPATSGSETPGTSESAT
	GGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGT	PESGPGTSTEPSEGSAP
	ACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAACCTT	GTSTEPSEGSAPGTSTE
	CGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACC	PSEGSAPGTSTEPSEGS
	AGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGAA	APGTSTEPSEGSAPGTS
	CCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCG	TEPSEGSAPGSPAGSPT
	AAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGA	STEEGTSTEPSEGSAPG
	GAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCT	TSESATPESGPGSEPAT
	GAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAG	SGSETPGTSESATPESG
	AGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCC	PGSEPATSGSETPGTSE

Название конструкции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	GGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGT ACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTC CAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGA AGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCC GCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTG CACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACC AGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAA TCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCT CTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGA GGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGT ACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGT CTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCC TGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGT AGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTG CTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGA ATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAA TCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGG AACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAAC GAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGT ACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGT CTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCC GGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCGCCGCAGAACCAGAGGCG	SATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGS PAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEP SEGAAEPEA
AC1969	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTTCCCCAGCAGGCAGCCCGACCAGCACCGAGGAGGG TACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCGGGTACCTCTACGGAACCG TCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCGCGACGCCGGAAAGCGGTC CAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAACGCCTGGTACCTCGGAGTC AGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCTGCAACGAGCGGTAGCGAG ACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGTCGGGTCCGGGCACCTCTA CGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCGACGTC AACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCTGAGTCGGGCCCTGGCAGC GAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTACCAGCGAGTCTGCTACGC CAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCCGACTAGCACGGAGGAGGG CAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAGGGTACGTCCACCGAACCG AGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTGCCACCCCTGAATCCGGTC CAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGGTCCAGGTACGAGCGAATC TGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCTGCTACTAGCGGCAGCGAA ACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCGAGACGCCGGGTTCCCCTG CAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTCCACCGAACCATCAGAAGG TAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAGGGCAGCGCACCGGGTGGC TCTGCTCCTGAATCAGGGAGAGCCGCGAACACAGAACCACCCGAGCTCGGCG CCGGAGCCACCTCTGGCAGCGAGACACCTGGGACGGACATCCAGATGACACA ATCCCCAAGCTCACTGTCCGCATCCGTCGGCGACCGGGTTACTATTACATGT CGCAGTACAAAGTCTCTGCTGCACTCTAACGGCATTACGTACCTGTACTGGT ACCAGCAAAAGCCCGGCAAAGCCCCCAAGCTGCTGATTTATCAGATGAGTAA TCTGGCATCCGGAGTACCGAGCCGGTTTTCCAGTTCTGGAAGCGGCACCGAC TTCACGTTGACGATATCCAGCCTCCAGCCTGAGGATTTCGCCACCTACTACT GCGCTCAGAATCTGGAGATCCCCCGGACTTTCGGACAGGGCACAAAGGTGGA GATTAAAGGCGCAACACCCCCCGAAACTGGAGCAGAAACTGAAAGCCCTGGA GAAACCACCGGCGGATCCGCCGAGTCAGAACCGCCAGGAGAAGGGCAAGTTC AGCTCGTTCAGTCTGGCCCAGGACTCGTTCAGCCTGGTGGAAGTGTGAGGAT AAGCTGCGCTGCCTCTGGCTATACCTTCACGAATTACGGCATGAATTGGGTA AAACAGGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCAACACCTATA CAGGAGAGAGTACCTATGCCGACTCATTTAAGGGGCGGTTCACCTTCAGCCT GGACACCTCTGCCTCCGCCGCCTACCTCCAAATTAACTCACTAAGAGCAGAG GACACCGCGGTGTATTATTGCGCAAGGTTTGCCATCAAAGGCGATTACTGGG GCCAAGGCACCTTGCTTACAGTGAGCTCTGGAGGAGGAGGGTCAGACATTCA AATGACCCAGAGCCCAAGCAGTCTCCCAGCTAGTCTAGGGGATCGGGTTACC ATAAATTGTCAGGCTTCTCAAGATATTAGTAATTATCTGAACTGGTATCAAC	SPAGSPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPG TSESATPESGPGTSESA TPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGG SAPESGRAANTEPPELG AGATSGSETPGTDIQMT QSPSSLSASVGDRVTIT CRSTKSLLHSNGITYLY WYQQKPGKAPKLLIYQM SNLASGVPSRFSSSGSG TDFTLTISSLQPEDFAT YYCAQNLEIPRTFGQGT KVEIKGATPPETGAETE SPGETTGGSAESEPPGE GQVQLVQSGPGLVQPGG SVRISCAASGYTFTNYG MNWVKQAPGKGLEWMGW INTYTGESTYADSFKGR FTFSLDTSASAAYLQIN SLRAEDTAVYYCARFAI KGDYWGQGTLLTVSSGG GGSDIQMTQSPSSLPAS LGDRVTINCQASQDISN YLNWYQQKPGKAPKLLI

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	AGAAGCCCGGTAAAGCGCCAAAATTGCTCATCTACTATACGAATAAACTGGC	YYTNKLADGVPSRFSGS
	AGATGGGGTACCCTCCAGATTCTCCGGTAGTGGTTCAGGCCGGGACTCGTCG	GSGRDSSFTISSLESED
	TTCACTATTAGCAGCCTGGAGTCTGAGGATATAGGCAGCTACTACTGCCAGC	IGSYYCQQYYNYPWTFG
	AATATTACAACTATCCATGGACCTTCGGGCCAGGCACCAAGCTGGAAATCAA	PGTKLEIKGATPPETGA
	GGGCGCAACACCACCCGAGACTGGTGCTGAAACCGAAAGCCCCGGTGAAACA	ETESPGETTGGSAESEP
	ACAGGCGGCTCTGCAGAGTCGGAACCTCCCGGAGAGGGGGAGGTGCAGCTGG	PGEGEVQLVESGGGLVQ
	TGGAAAGTGGAGGCGGACTGGTGCAACCTGGGAAAAGCCTGAAGCTGTCCTG	PGKSLKLSCEASGFTFS
	TGAAGCATCGGGCTTTACATTTAGCGGGTATGGCATGCATTGGGTGCGGCAG	GYGMHWVRQAPGRGLES
	GCGCCCGGTCGTGGCCTCGAATCTGTGGCCTACATCACTAGCTCTTCAATCA	VAYITSSSINIKYADAV
	ACATCAAGTACGCCGATGCCGTGAAGGGCAGATTTACAGTGAGCCGGGATAA	KGRFTVSRDNAKNLLFL
	TGCCAAGAACCTGCTGTTCCTTCAAATGAACATCCTAAAGAGCGAGGACACC	QMNILKSEDTAMYYCAR
	GCCATGTACTACTGCGCAAGGTTCGACTGGGACAAGAATTATTGGGGCCAGG	FDWDKNYWGQGTMVTVS
	GCACAATGGTAACAGTCTCTAGCGGGACAGCCGAGGCCGCTAGCGCCTCTGG	SGTAEAASASGESGRAA
	AGAGTCGGGGCGAGCGGCTAATACAGAACCACCTGAACTGGGTGCCGGGTCT	NTEPPELGAGSPGSPAG
	CCCGGTAGTCCTGCCGGGAGCCCCACAAGCACTGAAGAGGGAACCTCTGAGT	SPTSTEEGTSESATPES
	CAGCTACCCCGGAAAGCGGCCCCGGCACCTCTACGGAACCCTCCGAGGGATC	GPGTSTEPSEGSAPGSP
	TGCTCCAGGGTCCCCGGCCGGAAGCCCTACCTCAACAGAAGAGGGCACGTCC	AGSPTSTEEGTSTEPSE
	ACTGAGCCTAGCGAAGGGTCAGCCCCCGGAACCAGCACAGAACCCTCAGAGG	GSAPGTSTEPSEGSAPG
	GCAGTGCACCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTC	TSESATPESGPGSEPAT
	TGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCT	SGSETPGSEPATSGSET
	GGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAG	PGSPAGSPTSTEEGTSE
	GTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCC	SATPESGPGTSTEPSEG
	GAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCA	SAPGTSTEPSEGSAPGS
	CCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTG	PAGSPTSTEEGTSTEPS
	AACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAG	EGSAPGTSTEPSEGSAP
	CGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGC	GTSESATPESGPGTSTE
	ACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAG	PSEGSAPGTSESATPES
	AATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTAC	GPGSEPATSGSETPGTS
	TTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCC	TEPSEGSAPGTSTEPSE
	GAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAG	GSAPGTSESATPESGPG
	GCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTC	TSESATPESGPGSPAGS
	TCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGT	PTSTEEGTSESATPESG
	CCTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAAT	PGSEPATSGSETPGTSE
	CTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAG	SATPESGPGTSTEPSEG
	CGCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCC	SAPGTSTEPSEGSAPGT
	ACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGG	STEPSEGSAPGTSTEPS
	GTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTAC	EGSAPGTSTEPSEGSAP
	GAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCG	GTSTEPSEGSAPGSPAG
	ACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAG	SPTSTEEGTSTEPSEGS
	GTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAAC	APGTSESATPESGPGSE
	CAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGT	PATSGSETPGTSESATP
	CCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAAT	ESGPGSEPATSGSETPG
	CAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTC	TSESATPESGPGTSTEP
	GGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCG	SEGSAPGTSESATPESG
	GCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCT	PGSPAGSPTSTEEGSPA
	CTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTAC	GSPTSTEEGSPAGSPTS
	TTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCT	TEEGTSESATPESGPGT
	GAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAG	STEPSEGSAPGTSESAT
	GTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGC	PESGPGSEPATSGSETP
	AACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACC	GTSESATPESGPGSEPA
	CCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTG	TSGSETPGTSESATPES
	AGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCAC	GPGTSTEPSEGSAPGSP
	GGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAG	AGSPTSTEEGTSESATP
	CCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGG	ESGPGSEPATSGSETPG
	AAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTC	TSESATPESGPGSPAGS
	ACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGC	PTSTEEGSPAGSPTSTE
	GAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAG	EGTSTEPSEGSAPGTSE
	GCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGC	SATPESGPGTSESATPE
	CACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACT	SGPGTSESATPESGPGS
	CCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAG	EPATSGSETPGSEPATS
	GCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTC	GSETPGSPAGSPTSTEE

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	TGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAA CCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAG AATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCA CCATCATCACCATCAC	GTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGHHHHHH
AC1972	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATGTTCGTTTTTTCTATTG CTACAAACGCGTACGCTCACCATCATCACCATCACTCCCCAGCAGGCAGCCC GACCAGCACCGAGGAGGGTACGAGCGAGTCGGCTACTCCAGAGAGCGGTCCG GGTACCTCTACGGAACCGTCCGAAGGTAGCGCTCCAGGCACGTCTGAAAGCG CGACGCCGGAAAGCGGTCCAGGCAGCGAGCCGGCGACCTCCGGTAGCGAAAC GCCTGGTACCTCGGAGTCAGCGACTCCGGAAAGCGGTCCGGGTAGCGAACCT GCAACGAGCGGTAGCGAGACTCCAGGCACTAGCGAATCCGCAACTCCGGAGT CGGGTCCGGGCACCTCTACGGAGCCTAGCGAGGGCTCAGCACCAGGTAGCCC TGCAGGTTCCCCGACGTCAACCGAGGAAGGTACAAGCGAAAGCGCCACCCCT GAGTCGGGCCCTGGCAGCGAACCGGCAACTAGCGGCAGCGAGACTCCGGGTA CCAGCGAGTCTGCTACGCCAGAGAGCGGCCCAGGTTCGCCAGCGGGTTCGCC GACTAGCACGGAGGAGGGCAGCCCAGCGGGTAGCCCGACCAGCACTGAGGAG GGTACGTCCACCGAACCGAGCGAAGGTAGCGCACCAGGTACCTCCGAGTCTG CCACCCCTGAATCCGGTCCAGGTACCAGCGAATCAGCCACCCCGGAGTCGGG TCCAGGTACGAGCGAATCTGCTACCCCGGAATCCGGCCCAGGCAGCGAACCT GCTACTAGCGGCAGCGAAACGCCGGGCAGCGAACCTGCCACGTCAGGCAGCG AGACGCCGGGTTCCCCTGCAGGCTCCCCGACCAGCACTGAGGAGGGCACCTC CACCGAACCATCAGAAGGTAGCGCGCCTGGTACGTCAACCGAACCTTCCGAG GGCAGCGCACCGGGTGGCTCAGCGCCTGAATCTGGTCGTGCAGCTAACACCG AACCTCCTGAATTGGGAGCCGGTGCTACAAGCGGAAGTGAGACCCCCGGGAC CGATATCCAGATGACACAGAGCCCTTCTTCTCTGAGCGCCTCTGTTGGCGAT AGAGTGACAATCACCTGTAGGTCGACGAAGTCTCTGCTGCACAGCAATGGCA TCACCTACCTATACTGGTATCAACAAAAGCCGGGTAAAGCACCTAAACTGCT GATCTACCAGATGAGTAATCTGGCCTCTGGAGTTCCTAGCCGATTTTCTTCA TCTGGCTCTGGCACCGATTTTACACTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGG ATTTTGCCACCTACTATTGCGCCCAGAACCTGGAAATCCCAAGGACATTTGG ACAGGGCACCAAGGTGGAGATTAAGGGGGCAACACCTCCTGAAACAGGGGCC GAGACAGAGAGCCCCGGTGAGACAACTGGCGGGTCTGCTGAGAGCGAGCCTC CCGGTGAAGGACAGGTCCAACTGGTTCAGTCTGGGCCTGGGCTGGTCCAGCC CGGCGGTTCCGTGAGGATTAGTTGTGCTGCCAGCGGCTACACTTTCACCAAT TATGGGATGAACTGGGTTAAGCAGGCCCCAGGTAAGGGTCTGGAATGGATGG GCTGGATCAACACTTACACCGGAGAATCTACCTATGCCGATTCCTTCAAAGG GAGGTTTACTTTCTCTCTGGACACCAGTGCCAGTGCCGCTTACCTGCAGATC AATTCATTGAGGGCGGAAGATACCGCGGTGTATTACTGCGCCCGGTTCGCTA TCAAAGGCGACTATTGGGGGCAAGGTACGTTACTAACAGTGTCGTCTGGCGG GGGAGGATCTGAATTAGTTGTGACCCAAGAGCCAAGCCTGACTGTGAGCCCA GGCGGCACAGTGACCCTGACCTGTCGCTCCTCCACCGGAGCTGTGACAACCA GCAATTATGCCAACTGGGTGCAGCAGAAACCAGGTCAGGCACCGCGTGGACT TATTGGCGGCACCAACAAAAGAGCTCCAGGAACACCAGCCAGATTTTCTGGC TCTCTGCTTGGCGGAAAAGCTGCCCTGACATTATCTGGAGTTCAGCCTGAAG ATGAGGCGGAATATTACTGTGCTCTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTTGG AGGAGGTACCAAACTCACAGTTCTGGGAGCCACCCCCCCAGAGACTGGTGCT GAGACGGAATCTCCAGGAGAAACCACTGGAGGATCAGCTGAGAGCGAACCAC CCGGAGAGGGCGAAGTGCAGCTCCTCGAATCCGGGGGCGGTTTAGTTCAGCC CGGAGGTTCTCTCAAGCTGAGCTGTGCAGCTAGCGGATTCACATTTAACACA TATGCCATGAATTGGGTGCGGCAGGCTCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGG CCCGAATCCGCAGCAAGTACAATAACTACGCCACGTACTATGCCGACTCCGT GAAGGACAGGTTCACTATATCTCGCGACGATAGCAAGAATACAGCCTACCTG CAGATGAACAACCTCAAAACAGAGGACACCGCGGTATATTATTGCGTGAGAC ACGGGAACTTTGGAAACAGCTATGTGAGCTGGTTTGCCTACTGGGGTCAGGG CACCCTGGTAACCGTGAGCTCTGGGACAGCCGAGGCCGCTAGCGCCTCCGGC GAATCCGGAAGAGCCGCCAATACTGAACCTCCCGAACTCGGCGCCGGTCCTG GTAGTCCCGCGGGCTCTCCAACATCAACCGAAGAGGGCACTAGCGAATCCGC AACCCCTGAGAGCGGGCCCGGCACTTCTACCGAACCTTCGGAGGGCTCAGCC CCTGGCTCGCCCGCTGGTAGTCCCACCTCCACCGAGGAAGGCACAAGCACCG AGCCCTCAGAGGGCAGCGCACCCGGTACATCCACAGAGCCCTCTGAGGGCAG	HHHHHHSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGGSAPESGRAANT EPPELGAGATSGSETPG TDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRSTKSLLHSN GITYLYWYQQKPGKAPK LLIYQMSNLASGVPSRF SSSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCAQNLEIPR TFGQGTKVEIKGATPPE TGAETESPGETTGGSAE SEPPGEGQVQLVQSGPG LVQPGGSVRISCAASGY TFTNYGMNWVKQAPGKG LEWMGWINTYTGESTYA DSFKGRFTFSLDTSASA AYLQINSLRAEDTAVYY CARFAIKGDYWGQGTLL TVSSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCRSS TGAVTTSNYANWVQQKP GQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLG ATPPETGAETESPGETT GGSAESEPPGEGEVQLL ESGGGLVQPGGSLKLSC AASGFTFNTYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKT EDTAVYYCVRHGNFGNS YVSWFAYWGQGTLVTVS SGTAEAASASGESGRAA NTEPPELGAGPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGT

Название конструк-ции	Последовательность ДНК	Аминокислотная последовательность *
	TGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAG CCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTT CTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTAC CTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGC GAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGG GTTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACC TAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCA CCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGG AACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATC TGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCC ACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAAG GTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCAC CTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCA ACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTG GCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGC GACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCA CCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGG AACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGC ACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAA GCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTAC AAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGC GGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAG GTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGC CACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCA CCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAG GTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTAC GGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCT GAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAG GCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTC TGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACG CCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAG GTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCC TAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAG GAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTG CAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAG CGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGG GTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCAC CAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACT CCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTG GTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAG CCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCC CCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTG CGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATC CGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCGCCGCAGAACCAGAGGCG	SESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTST EPSEGAAEPEA

* подчеркнутый пептид представляет сигнальный пептид.

[00529] Пример 46. Получение ProTIA с одним XTEN

[00530] Экспрессия: Конструкции, удовлетворяющие формату aEpCAM-aCD3-RS-XTEN_AE864_His(6), экспрессировались в запатентованном штамме *E. coli* AmE098 и перераспределялись в периплазму благодаря N-концевой лидерной последовательности, обеспечивающей секрецию (MKKNIAFLLASMFVFSIATNAYA-), которая отщеплялась

при транслокации. Культивирование проводили в комплексной среде, не содержащей компонентов животного происхождения, при 37°C и понижали температуру до 26°C перед истощением фосфата. Собранную кондиционированную среду центрифугировали для осаждения клеток. При сборе регистрировали общий объем и массу клеток во влажном состоянии (WCW; отношение осадка к супернатанту) и осажденные клетки собирали и замораживали при -80°C.

[00531] Выделение: Замороженный клеточный осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (17,7 мМ лимонная кислота, 22,3 мМ Na_2HPO_4, 75 мМ NaCl, 2 мМ EDTA, pH 4,0) для достижения 30% массы клеток во влажном состоянии. Ресуспендированный осадок уравновешивали при pH 4, затем гомогенизировали двумя прогонами при 800±50 бар, контролируя температуру на выходе и поддерживая ее на уровне 15±5°C. Подтверждали, что pH гомогената находится в указанном диапазоне (pH 4,0±0,2).

[00532] Осветление: Для уменьшения содержания эндотоксина и примесей клетки-хозяина проводили низкотемпературное (10±5°C) кислотное (pH 4,0±0,2) осаждение гомогената в течение ночи (15-20 часов). Для удаления нерастворимой фракции осажденный гомогенат центрифугировали в течение 40 минут при относительной силе центрифугирования (RCF) 16900 при 2-8°C и отбирали надосадочную жидкость. Надосадочную жидкость разводили приблизительно в 3 раза водой Milli-Q (MQ), затем доводили электропроводимость до 7±1 мСм/см при помощи 5 М NaCl. Для удаления нуклеиновых кислот, липидов и эндотоксина в надосадочную жидкость добавляли 0,1% (мас./мас.) диатомит, служивший вспомогательным веществом для фильтрования. Чтобы вспомогательное вещество для фильтрования оставалось суспендированным, надосадочную жидкость смешивали при помощи лопастной мешалки и оставляли уравновешиваться в течение 30 минут. Собирали систему последовательных фильтров, состоящую из глубинного фильтра, за которым располагался фильтр с размером пор 0,22 мкм, и затем промывали MQ. Надосадочную жидкость прокачивали через систему фильтров, регулируя поток, чтобы поддерживать избыточное давление на уровне 25 ± 5 фунтов на квадратный дюйм. Чтобы довести сложную буферную систему (на основе лимонной кислоты и Na_2HPO_4 в определенном соотношении) до необходимого для хроматографии диапазона, фильтрат доводили при помощи 500 мМ Na_2HPO_4 так чтобы итоговое соотношение Na_2HPO_4 к лимонной кислоте составляло 9,33:1, и подтверждали, что pH забуференного фильтрата находится в указанном диапазоне (pH 7,0±0,2).

[00533] Очистка: Захват при помощи AEX: Для отделения димеров, агрегатов и крупных усеченных форм от мономерного продукта и для удаления эндотоксина и нуклеиновых кислот применяли анионообменную хроматографию (AEX) для захвата электроотрицательного C-концевого домена XTEN (AE864). Для этого использовали неподвижную фазу AEX1 (GE Q Sepharose FF), подвижную фазу AEX1 A (12,2 мМ Na_2HPO_4, 7,8 мМ NaH_2PO_4, 40 мМ NaCl), и подвижную фазу B для неподвижной фазы AEX1 (12,2 мМ Na_2HPO_4, 7,8 мМ NaH_2PO_4, 500 мМ NaCl). Колонку уравновешивали подвижной фазой A для неподвижной фазы AEX1. На основании концентрации общего белка, которую определяли методом с бицинхониновой кислотой (BCA), загружали фильтрат в колонку для достижения 28±4 г/л смолы, промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы AEX1, затем пропускали ступень до 30% B. Связанный материал элюировали градиентом от 30% B до 60% B в количестве 20 CV. Собирали фракции аликвотами объемом 1 CV, пока A220 ≥ 100 mAU выше (локальной) базовой линии. Элюированные фракции анализировали и объединяли в пул, руководствуясь результатами SDS-PAGE и SE-HPLC.

[00534] Промежуточная очистка IMAC: Чтобы подтвердить целостность C-конца использовали аффинную хроматографию с иммобилизованными ионами металла (IMAC) для захвата C-концевой полигистидиновой метки (His(6)). Для этого использовали неподвижную фазу IMAC (GE IMAC Sepharose FF), подвижную фазу A для неподвижной фазы IMAC (18,3 мМ Na_2HPO_4, 1,7 мМ NaH_2PO_4, 500 мМ NaCl, 1 мМ имидазол) и подвижную фазу B для неподвижной фазы IMAC (18,3 мМ Na_2HPO_4, 1,7 мМ NaH_2PO_4, 500 мМ NaCl, 500 мМ имидазол). Колонку заряжали раствором цинка и уравновешивали подвижной фазой A для неподвижной фазы IMAC. В пуле, полученном после AEX1, доводили pH до 7,8±0,1, электропроводимость до 50±5 мСм/см (при помощи 5 M NaCl) и 1 мМ имидазола, загружали в колонку IMAC для достижения 2 г/л смолы и промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы IMAC до тех пор, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Связанный материал элюировали ступенью до 25% подвижной фазы B для неподвижной фазы IMAC. Когда A280 ≥ 10 mAU выше (локальной) базовой линии, начинали собирать элюат IMAC в контейнер, в который заранее добавляли достаточно EDTA, чтобы концентрация EDTA в объеме 2 CV составляла 2 мМ, и заканчивали элюирование, когда собирали 2 CV. Элюат анализировали при помощи SDS-PAGE.

[00535] Промежуточная очистка при помощи белка L: Чтобы подтвердить целостность N-конца использовали белок L для захвата доменов каппа, находящихся вблизи N-конца молекулы (в частности, анти-EpCAM scFv). Для этого использовали неподвижную фазу с белком L (GE Capto L), подвижную фазу A для неподвижной фазы с белком L (16,0 мМ лимонная кислота, 20,0 мМ Na_2HPO_4, pH 4,0±0,1), подвижную фазу B для неподвижной фазы с белком L (29,0 мМ лимонная кислота, 7,0 мМ Na_2HPO_4, pH 2,60±0,02) и подвижную фазу C для неподвижной фазы с белком L (3,5 мМ лимонная кислота, 32,5 мМ Na_2HPO_4, 250 мМ NaCl, pH 7,0±0,1). Колонку уравновешивали подвижной фазой C для неподвижной фазы с белком L. В элюате после IMAC доводили pH до 7,0±0,1 и электропроводимость до 30±3 мСм/см (при помощи 5 M NaCl и MQ) и загружали в колонку с белком L для достижения 2 г/л смолы, затем промывали подвижной фазой C для неподвижной фазы с белком L, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Колонку промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы с белком L, а подвижные фазы A и B для неподвижной фазы с белком L использовали для элюирования с низким pH. Связанный материал элюировали приблизительно при pH 3,0 и собирали в контейнер, в который заранее добавляли одну часть 0,5 M Na_2HPO_4 на каждые 10 частей собранного объема. Фракции анализировали при помощи SDS-PAGE.

[00536] Окончательная очистка при помощи HIC: Для разделения N-концевых вариантов (4 остатка на самом N-конце несущественны для связывания белка L) и вариантов с различной общей конформацией использовали хроматографию гидрофобных взаимодействий (HIC). Для этого использовали неподвижную фазу HIC (GE Capto Phenyl ImpRes), подвижную фазу A для неподвижной фазы HIC (20 мМ гистидин, 0,02% (мас./об.) полисорбат 80, pH 6,5±0,1) и подвижную фазу B для неподвижной фазы HIC (1 M сульфата аммония, 20 мМ гистидин, 0,02% (мас./об.) полисорбат 80, pH 6,5±0,1). Колонку уравновешивали при помощи подвижной фазы B для неподвижной фазы HIC. Элюат с колонки с белком L после доведения загружали с колонку HIC для достижения 2 г/л смолы и промывали подвижной фазой B для неподвижной фазы HIC до тех пор, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Колонку промывали 50% B. Связанный материал элюировали градиентом от 50% B до 0% B в количестве 75 CV. Фракции собирали аликвотами по 1 CV пока A280 $\geq$ 3 mAU выше

(локальной) базовой линии. Элюированные фракции анализировали и объединяли в пул на основании результатов SE-HPLC и HI-HPLC.

[00537] Получение итогового состава: Для замены буфера на рецептурный буфер и доведения концентрации продукта до целевых значений (0,5 г/л) вновь использовали анионообменную хроматографию для захвата C-конца XTEN (AE864). Для этого использовали неподвижную фазу AEX2 (GE Q Sepharose FF), подвижная фаза A для неподвижной фазы AEX2 (20 мМ гистидин, 40 мМ NaCl, 0,02% (мас./об.) полисорбат 80, pH 6,5±0,2), подвижную фазу B для неподвижной фазы AEX2 (20 мМ гистидин, 1 M NaCl, 0,02% (мас./об.) полисорбат 80, pH 6,5±0,2) и подвижную фазу C для неподвижной фазы AEX2 (12,2 мМ Na_2HPO_4, 7,8 мМ NaH_2PO_4, 40 мМ NaCl, 0,02% (мас./об.) полисорбат 80, pH 7,0±0,2). Колонку уравновешивали подвижной фазой C для неподвижной фазы AEX2. В пулированном элюате HIC доводили pH до 7,0±0,1 и электропроводимость до 7±1 мСм/см (при помощи MQ) и загружали в колонку AEX2 для достижения 2 г/л смолы, затем промывали подвижной фазой C для неподвижной фазы AEX2 до тех пор, пока A280 не возвращалась к (локальной) базовой линии. Колонку промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы AEX2 (20 мМ гистидин, 40 мМ NaCl, 0,02% (мас./об.) полисорбат 80, pH 6,5±0,2). Подвижные фазы A и B для неподвижной фазы AEX2 использовали для создания ступени [NaCl] и элюирования. Связанный материал элюировали ступенью до 38% подвижной фазы B для неподвижной фазы AEX2. Сбор элюата AEX2 начинали, когда A280 $\geq$ 5 mAU выше (локальной) базовой линии и завершали после сбора 2 CV. Элюат после AEX2 пропускали через фильтр с размером пор 0,22 мкм в ламинаре, аликвотировали, маркировали и хранили при -80°C в виде нерасфасованной лекарственной субстанции (BDS). При помощи различных аналитических методов подтверждали, что нерасфасованная лекарственная субстанция (BDS) соответствует всем критериям выпуска партии. Общее качество анализировали при помощи SDS-PAGE (Фиг. 84), соотношение мономеров к димерам и агрегатам анализировали при помощи SE-HPLC (Фиг. 85A), а целостность N-конца и гомогенность продукта анализировали при помощи HI-HPLC (Фиг. 85B).

[00538] <u>Пример 47. Получение ProTIA с двумя XTEN</u>

[00539] Молекула AC1955: His(6)_XTEN_AE288-RSR2295-aEGFR-aCD3-RSR2295-XTEN_AE864_EPEA

[00540] Экспрессия: AC1955 экспрессировалась в запатентованном штамме *E. coli* AmE098 и перераспределялась в периплазму благодаря N-концевой лидерной последовательности, обеспечивающей секрецию (MKKNIAFLLASMFVFSIATNAYA-), которая отщеплялась при транслокации. Культивирование проводили в комплексной среде, не содержащей компонентов животного происхождения, при 37°C и понижали температуру до 26°C перед истощением фосфата. Собранную кондиционированную среду центрифугировали для осаждения клеток. При сборе регистрировали общий объем и массу клеток во влажном состоянии (WCW; отношение осадка к супернатанту) и осажденные клетки собирали и замораживали при -80°C.

[00541] Выделение: Замороженный клеточный осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (100 мМ лимонная кислота) для достижения 30% массы клеток во влажном состоянии. Ресуспендированный осадок уравновешивали при pH 4,4, затем гомогенизировали двумя прогонами при 17000±200 бар, контролируя температуру на выходе и поддерживая ее на уровне 15±5°C. Подтверждали, что pH гомогената находится в указанном диапазоне (pH 4,4±0,1).

[00542] Осветление: Для уменьшения содержания эндотоксина и примесей клетки-хозяина проводили низкотемпературное (10±5°C), кислотное (pH 4,4±0,1) осаждение гомогената в течение ночи (15-20 ч). Для удаления нерастворимой фракции осажденный гомогенат центрифугировали в течение 40 минут при относительной силе центрифугирования (RCF) 8000 при 2-8°C и отбирали надосадочную жидкость. Для удаления нуклеиновых кислот, липидов и эндотоксина в надосадочную жидкость добавляли 0,1% (мас./мас.) диатомит, служивший вспомогательным веществом для фильтрования. Чтобы вспомогательное вещество для фильтрования оставалось суспендированным, надосадочную жидкость смешивали при помощи лопастной мешалки и оставляли для уравновешивания в течение 30 минут. Собирали систему последовательных фильтров, состоящую из глубинного фильтра, за которым располагался фильтр с размером пор 0,22 мкм, и затем промывали MQ. Надосадочную жидкость прокачивали через систему фильтров, регулируя поток, чтобы поддерживать избыточное давление на уровне 25 ± 5 фунтов на квадратный дюйм.

[00543] Очистка: Захват при помощи белка L: Для удаления белков клетки-хозяина, эндотоксинов и нуклеиновых кислот использовали белок L для захвата домена каппа, присутствующего в составе анти-EGFR scFv молекулы AC1955. Для этого использовали неподвижную фазу с белком L (Tosoh TP AF-rProtein L-650F), подвижную фазу A для

неподвижной фазы с белком L (11,5 мМ лимонная кислота, 24,5 мМ Na_2HPO_4, 125 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 5,0) и подвижную фазу B для неподвижной фазы с белком L (11 мМ фосфорная кислота, 0,005% полисорбат 80, pH 2,0). Колонку уравновешивали подвижной фазой A для неподвижной фазы с белком L. pH фильтрата доводили до 5,5±0,2 и загружали в колонку с белком L для достижения 2-4 г/л смолы, затем промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы с белком L до тех пор, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Связанный материал элюировали подвижной фазой B и собирали фракции в объеме 2 CV, предварительно добавив 0,4 CV 0,5 M Na_2HPO_4, и анализировали при помощи SDS-PAGE.

[00544] Промежуточная очистка IMAC: Чтобы подтвердить целостность N-конца использовали аффинную хроматографию с иммобилизованными ионами металла (IMAC) для захвата N-концевой полигистидиновой метки (His(6)) молекулы AC1955. Для этого использовали неподвижную фазу IMAC (GE IMAC Sepharose FF), подвижную фазу A для неподвижной фазы IMAC (12,2 мМ Na_2HPO_4, 7,8 мМ NaH_2PO_4, 500 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 7,0) и подвижную фазу B для неподвижной фазы IMAC (50 мМ гистидин, 200 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 6,5). Колонку уравновешивали подвижной фазой A для неподвижной фазы IMAC. В элюате с белка L доводили pH до 7,8±0,1 и электропроводимость до 50±5 мСм/см (при помощи 5 M NaCl). После доведения пулированный элюат с белка L загружали в колонку IMAC для достижения 2 г/л смолы и промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы IMAC до тех пор, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Связанный материал элюировали при помощи подвижной фазы B для неподвижной фазы IMAC. Собирали элюированную после IMAC фракцию объемом 2 CV, предварительно добавив 0,02 CV 200 мМ EDTA, и анализировали при помощи SDS-PAGE.

[00545] Промежуточная очистка при помощи C-tag: Чтобы подтвердить целостность C-конца использовали аффинную хроматографию с C-tag для захвата C-концевой метки - EPEA. Для этого использовали неподвижную фазу с C-tag (Thermo C-tagXL), подвижную фазу A для неподвижной фазы с C-tag (50 мМ гистидин, 200 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 6,5) и подвижную фазу B для неподвижной фазы с C-tag (20 мМ Tris, 0,6 M $MgCl_2$, 0,005% полисорбат 80, pH 7,0). Колонку уравновешивали подвижной фазой A для неподвижной фазы с C-tag. Элюат после IMAC загружали в колонку с C-tag для достижения 2 г/л смолы и промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы с C-tag

до тех пор, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Связанный материал элюировали подвижной фазой B для неподвижной фазы с C-tag. Собирали элюированную после C-tag фракцию объемом 2 CV и анализировали при помощи SDS-PAGE.

[00546] Окончательная очистка при помощи AEX: Для разделения димеров и агрегатов от мономерного продукта использовали анионообменную хроматографию (AEX) для захвата электроотрицательных N- и C-концевых доменов XTEN. Для этого использовали неподвижную фазу AEX1 (BIA QA-80), подвижную фазу A для неподвижной фазы AEX1 (50 мМ гистидин, 200 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 6,5) и подвижную фазу B для неподвижной фазы AEX1 (50 мМ гистидин, 500 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 6,5). Колонку уравновешивали при помощи подвижной фазы A для неподвижной фазы AEX1. Элюат после колонки с C-tag разводили до 10 мСм/см при помощи MQ, загружали для достижения 2 г/л смолы и затем промывали подвижной фазой A для неподвижной фазы AEX1 до тех пор, пока поглощение при 280 нм (A280) не возвращалось к (локальной) базовой линии. Связанный материал элюировали градиентом от 0% B до 100% B в объеме более 60 CV. Собирали фракции аликвотами по 1 CV, пока A280 $\geq$ 2 mAU выше (локальной) базовой линии. Элюированные фракции анализировали при помощи SDS-PAGE и SE-HPLC, и объединяли в пул фракции, в которых мономеры $\geq$ 98% (пул после AEX) для дальнейшей обработки.

[00547] Получение итогового состава: Для замены буфера на рецептурный буфер и доведения концентрации продукта до целевых значений (0,5 г/л) использовали ультрафильтрацию/диафильтрацию (UF/DF). Используя мембрану с порогом отсечения 10 кДа площадью 0,1 м² и перепад давления на мембране 15 фунтов на квадратный дюйм, пул после AEX концентрировали до 0,5 г/л, затем разводили в 10 раз при помощи рецептурного буфера (50 мМ гистидин, 200 мМ NaCl, 0,005% полисорбат 80, pH 6,5). Пул после AEX концентрировали в 10 раз и разводили в 10 раз еще два раза. Полученный продукт пропускали через фильтр с размером пор 0,22 мкм в ламинаре, аликвотировали, маркировали и хранили при 80°C в виде нерасфасованной лекарственной субстанции (BDS). При помощи различных аналитических методов подтверждали, что BDS соответствует всем критериям выпуска партии. Общее качество анализировали при помощи SDS-PAGE (Фиг. 86A), соотношение мономеров к димерам и агрегатам анализировали при помощи SE-HPLC (Фиг. 87A), а гомогенность N- продукта

анализировали при помощи HI-HPLC (Фиг. 87B). Подлинность подтверждали при помощи ESI-MS (Фиг. 86B).

[00548] Пример 48. Оценка связывания с клетками при помощи проточной цитометрии.

[00549] Связывание биспецифической композиции анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA также оценивали методом проточной цитометрии с использованием человеческих CD3 положительных клеток Jurkat и человеческих EGFR положительных клеток, выбранных из HT-29, HCT-116, NCI-H1573, NCI-H1975, FaDu и SCC-9 или стабильной клеточной линии CHO, экспрессирующей EGFR. $CD3^+$ и $EGFR^+$ клетки инкубировали с диапазоном концентраций необработанной анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1955, содержащей 2 XTEN и 2 RS), обработанной протеазой AC1955 и положительных контролей анти-CD3 scFv и анти-EGFR scFv в течение 30 мин при 4°C в буфере для связывания, содержащем HBSS с 2% BSA и 5 мМ EDTA. После отмывания буфером для связывания для удаления несвязанного исследуемого материала клетки инкубировали с конъюгированным с FITC антителом к His метке (Abcam кат. номер ab1206) в течение 30 мин при 4°C. Несвязанное конъюгированное с FITC антитело удаляли путем отмывания буфером для связывания и ресуспендировали клетки в буфере для связывания для последующего анализа на проточном цитометре FACS Calibur (Becton Dickinson) или эквивалентном инструменте. Все данные проточной цитометрии анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo (FlowJo LLC) или эквивалентного.

[00550] Ожидалось, что анти-EGFR scFv не будет связываться с клетками Jurkat, тогда как анти-CD3 scFv, не обработанная протеазой AC1955 и обработанная протеазой AC1955 будут связываться с клетками Jurkat, на что будет указывать увеличение интенсивности флуоресценции по сравнению с тем, когда клетки Jurkat инкубировали только с конъюгированным с FITC антителом против His метки. Аналогично, ожидалось, что анти-EGFR scFv, обработанная протеазой и не обработанная протеазой AC1955 будут связываться с EGFR-положительными клетками, тогда как анти-CD3 scFv не будет связываться с EGFR-положительными клетками. Ожидается, что эти данные будут отражать способность биспецифической композиции анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA распознавать как антиген CD3, так и антиген EGFR, экспрессируемые на клетках Jurkat и панели EGFR-экспрессирующих линий клеток человека, соответственно. Более того, поскольку полимер XTEN в некоторой степени мешает поверхностному связыванию, ожидалось, что не обработанная протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA будет

связываться с более низкой аффинностью по сравнению с обработанной протеазой ProTIA как с антигеном CD3, так и с антигеном EpCAM.

[00551] Пример 49. Оценка клеточного лизиса методом проточной цитометрии.

[00552] Лизис клеток, опосредованный композицией анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA оценивали методом проточной цитометрии с использованием человеческих PBMC и EGFR положительной линии клеток. EGFR-положительные клетки-мишени HCT-116 (или клетки-мишени, выбранные из HT-29, NCI-H1573, NCI-H1975, FaDu и SCC-9 или стабильной линии клеток CHO, экспрессирующей EGFR) метили флуоресцентным красителем для клеточной мембраны CellVue Maroon (Affymetrix/eBioscience, кат. номер 88-0870-16) согласно инструкциям производителя. В альтернативном варианте можно также использовать PKH26 (Sigma, кат. номер MINI26 и PKH26GL). Вкратце, клетки HCT-116 дважды отмывали PBS, после чего ресуспендировали 2 x 10^6 клеток в 0,1 мл разбавителя C, входящего в набор для окрашивания CellVue Maroon. В отдельной пробирке смешивали 2 мкл красителя CellVue Maroon и 0,5 мл разбавителя C, а затем добавляли 0,1 мл к суспензии клеток HCT-116. Клеточную суспензию и краситель CellVue Maroon смешивали и инкубировали в течение 2 мин при комнатной температуре. Затем гасили мечение путем добавления 0,2 мл эмбриональной телячьей сыворотки (FCS). Меченые клетки дважды отмывали полной культуральной средой (RPMI-1640, содержащей 10% FCS) и определяли общее число жизнеспособных клеток по вытеснению трипанового синего. 1x10^5 PBMC культивировали совместно с 1 x 10^4 клетками HCT-116, меченными CellVue Maroon на лунку в 96-луночном круглодонном планшете при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 10:1 в общем объеме 200 мкл на лунку в отсутствии или в присутствии образцов обработанной протеазой и не обработанной протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1955, содержащая 2 XTEN и 2 RS) в указанном диапазоне концентраций. Через 24 ч клетки собирали при помощи аккутазы (Innovative Cell Technologies, кат. номер AT104) и отмывали 2% FCS/PBS. Перед анализом на проточном цитометре Guava easyCyte (Millipore), клетки ресуспендировали в 100 мкл 2% FCS/PBS с добавлением 2,5 мкг/мл 7-AAD (Affymetrix/eBioscience, кат. номер 00-6993-50) для различения живых (7-AAD-негативных) и мертвых (7-AAD-позитивных) клеток. Данные FACS анализировали в программе guavaSoft (Millipore) и рассчитывали процентное содержание мертвых клеток-мишеней по числу 7-AAD-позитивных/CellVue

Maroon-позитивных клеток, поделенному на общее количество CellVue Maroon-позитивных клеток.

[00553] Кривые зависимости между дозой (концентрацией) ProTIA и гибелью клеток, характеризующие цитотоксичность, анализировали при помощи четырехпараметрической регрессионной модели с использованием программы GraphPad prism и, таким образом, определяли концентрацию ProTIA, вызывающую цитотоксичность, равную половине максимальной.

[00554] Результаты оценки цитотоксичности при помощи проточной цитометрии должны согласовываться с результатами, полученными в других тестах на цитотоксичность, включая анализ LDH и каспазы. Ожидалось, что при воздействии композиций расщепленной протеазой и нерасщепленной анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA на клетки HCT-116 в отсутствие PBMC эффект будет отсутствовать. Аналогично, ожидалось, что PBMC не будут активироваться в присутствии ProTIA без клеток-мишеней. Ожидалось, что эти результаты будут свидетельствовать, что композиции ProTIA должны образовать кластеры на поверхности клеток-мишеней для стимуляции цитотоксической активности PBMC. В присутствии PBMC и клеток-мишеней будет наблюдаться дозозависимый цитотоксический эффект, обусловленный предварительно обработанной или не обработанной протеазой ProTIA. Кроме того, ожидалось, что результаты продемонстрируют, что воздействие на клетки HCT-116 необработанной ProTIA (в отсутствие протеазы) в присутствии PBMC будет вызывать пониженную цитотоксичность по сравнению с расщепленной протеазой композицией ProTIA.

[00555] <u>Пример 50. Исследование маркеров активации Т-клеток в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EGFR x анти-CD3</u>

[00556] Для измерения маркеров активации, индуцированной анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (CD69 и CD25), 1 X 10^5 PBMC или выделенных клеток CD3+ культивировали совместно с 1 X 10^4 клетками HCT-116 или HT-29 на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 10:1) в RPMI-1640, содержащей 10% FCS, в присутствии анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1955, содержащей 2 XTEN и 2 RS) в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. После инкубации в течение 20 ч при 37°C в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO2, клетки окрашивали конъюгированным с PECy5 антителом к CD4, конъюгированным с APC

антителом к CD8, конъюгированным с PE антителом к CD25 и конъюгированным с FITC антителом к CD69 (все антител от BioLegend) в буфере FACS (1% BSA/PBS) при 4°C, дважды отмывали буфером FACS и затем ресуспендировали в буфере FACS для анализа на проточном цитометре Guava easyCyte (Millipore).

[00557] Ожидалось, что профиль экспрессии маркеров активации Т-клеток для трех молекул ProTIA будет схожим с тем, что наблюдалось в исследованиях цитотоксичности, включая определение LDH и каспазы. Ожидалось, что активация CD69 на CD8 и CD4 популяциях PBMC или CD3+ клеток под воздействием необработанной анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1955) будет меньше, чем под воздействием обработанной протеазой AC1955 ProTIA; а под воздействием нерасщепляемой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1991) будет меньше, чем под воздействием необработанной AC1955.

[00558] Пример 51. Мультиплексный анализ человеческих Th1/Th2 цитокинов с использованием стимулированных человеческих PBMC, полученных от здоровых доноров и интактной и обработанной протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA

[00559] Для оценки безопасности способности интактной и расщепленной ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 (AC1955, содержащей 2 XTEN и 2 RS) стимулировать высвобождение Т-клеточных цитокинов в анализе на клетках *in vitro* анализировали панель цитокинов, включающую IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа, IFN-гамма, с использованием мультиплексного анализа (CBA) в образцах супернатантов культивированных PBMC человека, стимулированных образцами обработанной и не обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3. В качестве положительного контроля использовали антитело OKT3 к CD3 человека, а необработанные лунки служили отрицательным контролем.

[00560] Вкратце, OKT3 (0, 10 нМ, 100 нМ и 1000 нМ) и обработанную и не обработанную протеазой анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1955 в концентрациях 10 нМ, 100 нМ, 1000 нМ и 2000 нМ) иммобилизовали на поверхности 96-луночного плоскодонного планшета, оставляя содержимое лунок испаряться насухо. Затем лунки однократно аккуратно промывали PBS и в каждую лунку добавляли $1X10^6$ PBMC в объеме 200 мкл. Затем планшет инкубировали при 37°C, 5% CO_2 в течение 24 ч, после чего культуральную надосадочную жидкость собирали из каждой лунки и анализировали высвобожденные цитокины с помощью валидированного коммерческого набора CBA (BD CBA human

Th1/Th2 cytokine kit, кат. номер 551809) методом проточной цитометрии согласно инструкциям производителя.

[00561] Как и ожидалось, OKT3 индуцировал устойчивую секрецию всех оцениваемых цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-альфа, IFN-гамма), чего не наблюдалось в необработанных лунках, что подтверждало качество выполнения анализа цитокинов CBA. Ожидалось, что стимуляция обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 будет запускать выраженную экспрессию всех протестированных цитокинов, особенно в концентрациях, превышающих 100 нМ. Напротив, когда активатором служила интактная нерасщепленная молекула ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 в диапазоне концентраций от 10 до 2000 нМ, ожидались базальные уровни IL-2, IL-6, IL-10, TNF-альфа и IFN-гамма. Эти данные подтверждают, что полимер XTEN интактной композиции ProTIA обеспечивает значительный экранирующий эффект и препятствует цитокиновому ответу стимулированных PBMC по сравнению с обработанной протеазой композицией ProTIA, из которой высвобождается фрагмент EGFR x анти-CD3.

[00562] Пример 52. Исследование цитотоксичности, опосредованной стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EGFR x анти-CD3 в присутствии выделенных CD3 положительных Т-клеток.

[00563] Чтобы продемонстрировать, что цитотоксическая активность молекул ProTIA опосредована CD3 положительными Т-клетками, нерасщепляемую ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 без высвобождающего сегмента (AC1991, содержащую 2 XTEN) и обработанную и не обработанную протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 (AC1055, содержащую 2 XTEN и 2 RS) оценивали на EGFR+ клеточных линиях человеческого происхождения (например, HCT-116 или HT-29) в присутствии выделенных CD3 положительных Т-клеток человека. Выделенные CD3 положительные Т-клетки человека приобретали в BioreclamationIV, где их выделяли методом негативной селекции из цельной крови здоровых доноров с применением набора для выделения человеческих CD3+ Т-клеток MagCellect. В этом эксперименте выделенные CD3 положительные Т-клетки человека смешивали с EGFR+ клеточной линией в соотношении приблизительно 10:1 и тестировали все три молекулы ProTIA в анализе на высвобождение LDH, как описано выше, в серии 12 последовательных 5-кратных разведений. Ожидалось, что профиль активности трех молекул ProTIA в отношении CD3+ клеток будет схожим с профилем, наблюдавшимся в отношении той же линии клеток в анализе с PBMC.

Ожидалось, что необработанная AC1955 будет менее активной по сравнению с обработанной протеазой AC1955; а нерасщепляемая AC1991 будет менее активной по сравнению с не обработанной протеазой AC1955. Такие результаты демонстрируют, что цитотоксическая активность молекул ProTIA действительно опосредована CD3 положительными Т-клетками. Чувствительность высвобождающего сегмента, содержащегося в расщепляемой молекуле ProTIA анти-EGFR x анти-CD3, к протеазам, предположительно высвобождаемым из опухолевых клеток и/или активированных CD3 положительных Т-клеток в аналитической смеси, отличается в зависимости от клеточных линий.

[00564] Пример 53. Исследование маркера активации Т-клеток и анализ высвобождения цитокинов в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EGFR x анти-CD3.

[00565] Для измерения экспрессии цитокинов, индуцированной анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA, выделенные CD3+ клетки культивировали совместно с клетками HCT-116 на лунку (т.е. при соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней приблизительно 10:1) в присутствии анти-EGFR x анти-CD3 ProTIA (AC1955, содержащей 2 XTEN и 2 RS) в 96-луночном круглодонном планшете в конечном объеме 200 мкл. После 20 ч инкубации при 37°C, в инкубаторе с влажной атмосферой с содержанием 5% CO2, собирали клеточный супернатант для определения цитокинов. Данное исследование также можно осуществлять с другими клетками-мишенями, выбранными из HT-29, NCI-H1573, NCI-H1975, FaDu и SCC-9, а также с PBMC вместо выделенных CD3+ клеток.

[00566] Количественное определение цитокинов интерлейкин (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10, фактор некроза опухоли (TNF)-альфа и интерферон (IFN)-гамма, секретированных в культуральную надосадочную жидкость, проводили с использованием мультиплексного анализа Human Th1/Th2 Cytokine (CBA) (BD Biosciences кат. номер 550749) согласно инструкциям производителя. Ожидалось, что в отсутствие ProTIA секреция цитокинов выделенными CD3+ клетками не будет превышать фоновую. Ожидалось, что AC1955 в присутствии EGFR-положительных клеток-мишеней и выделенных CD3+ клеток будет активировать Т-клетки и вызывать секрецию Т-клеточных цитокинов с высокой долей Th1 цитокинов, таких как IFN-гамма и TNF-альфа. Ожидалось, что обработанная протеазой AC1955 будет активировать Т-клетки и вызывать секрецию Т-клеточных цитокинов в

более низких концентрациях по сравнению с интактной AC1955, подтверждая экранирующий эффект полимера XTEN, входящего в состав ProTIA.

[00567] Пример 54. Определение каспазы 3/7 в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши.

[00568] Оценивали перенаправленную клеточную цитотоксичность композиций ProTIA анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши путем определения активности каспазы 3/7 апоптотических клеток. Спленоциты мыши механически диссоциировали из селезенок мышей BALB/c путем измельчения между матовыми концами двух предметных стекол, на которые наносят маркировку, лизиса эритроцитов при помощи буфера, содержащего аммоний, хлорид и калий (ACK) и фильтрования через фильтр с размером пор 40 мкм. Мышиные CD3 клетки выделяли путем негативной селекции из спленоцитов мыши с использованием набора EasySep Mouse T Cell Isolation (StemCell кат. номер 19851). Выделенные CD3 положительные Т-клетки смешивали с мышиными EpCAM положительными опухолевыми клетками-мишенями, такими как 4T1, msEp-CT26 (пул CT26, стабильно трансфицированных мышиным EpCAM со средней плотностью EpCAM мыши 500000) и msEp-CT26-3 (клон CT26, трансфицированных мышиным EpCAM со средней плотностью EpCAM мыши 410000 на клетку) в соотношении 5 или 10 эффекторных клеток на 1 клетку-мишень; и тестировали все три варианта ProTIA в 8 или 12 концентрациях, полученных путем последовательных 5-кратных или 8-кратных разведений.

[00569] Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость после лизиса клеток каспазу 3/7 измеряли по количеству люминогенного субстрата каспазы 3/7, расщепленного каспазой 3/7 с испусканием люминесцентного сигнала типа «свечения» (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы.

[00570] Результаты: Как показано в Таблице 19, активность нерасщепляемой AC1867 и AC1554 в отношении всех протестированных экспрессирующих EpCAM линий клеток была стабильно ниже по сравнению с необработанными протеазой ProTIA (AC1696 и AC1553). Как и ожидалось, расщепленные протеазой AC1696 и AC1553 были наиболее активными, а расщепляемые не обработанные протеазой конструкции ProTIA демонстрировали различную активность, в зависимости от последовательности высвобождающего сегмента и линии клеток-мишеней.

[00571] Таблица 19. Цитотоксическая активность *in vitro* вариантов анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши в отношении мышиных клеточных линий.

ProTIA	Высвобождающий сегмент	EC50 (пМ)		
		4T1	пул msEp-CT26	ms-Ep-CT26-3
расщепленный AC1696	расщепленный RSR-2089	128	6,8	5,0-13
AC1553	BSRS-1	1831	240	
AC1696	RSR-2089	2000	286	140
AC1598	RSR-2295	3310	235	225
AC1677	RSR-2298	2400	140	
AC1712	RSR-2485		2550	1600
AC1713	RSR-2486	4220	1000	510
AC1690	RSR-2488	8470	710	
AC1710	RSR-2599	2470	1220	1700
AC1867	RSR-3058		2770	4800
расщепленный AC1553	расщепленный BSRS-1	83,3		
AC1554	нет	20800		
AC1868	RSR-2783		3700	2600
AC1869	RSR-2787		4200	
AC1870	RSR-2789		280	200
AC1871	RSR-3047		3900	
AC1872	RSR-3052		4000	
AC1873	RSR-3043		160	
AC1822	RSR-2486			840
AC1992	RSR-3107			5400
AC1993	RSR-3103			4200
AC1994	RSR-3102			5200
AC1995	RSR-3119			3400
AC1996	RSR-3110			1100
AC1997	RSR-3114			1200
AC1998	RSR-3115			1100
AC1999	RSR-3126			1700
AC2000	RSR-3127			2000

[00572] Пример 55. Определение каспазы 3/7 в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM человека x анти-CD3 мыши.

[00573] Оценивали перенаправленную клеточную цитотоксичность композиций ProTIA анти-EpCAM человека x анти-CD3 мыши путем определения активности каспазы 3/7 апоптотических клеток. Спленоциты мыши механически диссоциировали из селезенок мышей C57BL/6 путем измельчения между матовыми концами двух предметных стекол, на которые наносят маркировку, лизиса эритроцитов при помощи буфера, содержащего аммоний, хлорид и калий (ACK) и фильтрования через фильтр с размером пор 40 мкм.

Мышиные CD3 клетки выделяли путем негативной селекции из спленоцитов мыши с использованием набора EasySep Mouse T Cell Isolation (StemCell кат. номер 19851). Выделенные CD3 положительные Т-клетки смешивали с человеческими EpCAM положительными опухолевыми клетками-мишенями, такими как hEp-CHO 4-12B (клон CHO, трансфицированных человеческим EpCAM), HCT-116, hEp-LL/2 (пул клеток карциномы легкого Льюис, трансфицированных EpCAM человека) и hEp-LL/2-1 - hEp-LL/2-5 (пять клонов клеток карциномы легкого Льюис, трансфицированных EpCAM человека) в соотношении 5-10 эффекторных клеток на 1 клетку-мишень; и все три варианта ProTIA тестировали в 8 или 12 концентрациях, полученных путем последовательных 5- или 8-кратных разведений.

[00574] Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость после лизиса клеток каспазу 3/7 измеряли по количеству люминогенного субстрата каспазы 3/7, расщепленного каспазой 3/7 с испусканием люминесцентного сигнала типа «свечения» (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы.

[00575] Результаты: Как показано в Таблице 20, для ProTIA с единственной группировкой XTEN, активность нерасщепляемой AC1916 в отношении всех протестированных клеточных линий, экспрессирующих EpCAM, стабильно ниже по сравнению с не обработанной протеазой AC1783. Для ProTIA с двумя группировками XTEN активность нерасщепляемой AC1949 и AC1956 ниже по сравнению с не обработанной протеазой AC1948 и AC1957. Интересно, что не обработанная протеазой ProTIA с scFv против EpCAM человека и scFv против CD3 мыши (AC1948) была менее активна по сравнению с не обработанной протеазой ProTIA с одноцепочечным диателом против EpCAM человека и CD3 мыши (AC1957). Указанная тенденция также наблюдалась у нерасщепляемой ProTIA с scFv против EpCAM человека и scFv против CD3 мыши (AC1949) и нерасщепляемой ProTIA с одноцепочечным диателом против EpCAM человека и CD3 мыши (AC1956). Как и ожидалось, расщепленные протеазой AC1783 и AC1948 были наиболее активными. Данные по цитотоксичности в отношении huEp-CHO 4-12B приведены на Фиг. 37.

[00576] Таблица 20: Цитотоксическая активность *in vitro* вариантов анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши в отношении мышиных клеточных линий.

ProTIA	Высвобождающий сегмент	EC50 (пМ)			
		hEp-CHO 4-12B	HCT-116	Пул hEp-LL/2	Клоны hEp-LL/2
AC1783	расщепленный RSR-2295	230	1040	370	670-6600
расщепленный AC1783	расщепленный RSR-2295	9.5	420	170	130-500
расщепленный AC1948	RSR-2295	12		180	
AC1948	RSR-2295	5650		4100	
AC1916	RSR-3058	3050		>9000	3800-38000
AC1949	RSR-3058	240000		>100000	
AC1957	RSR-2295	255			
AC1956	RSR-3058	4900			

[00577] Пример 56. Определение максимальной переносимой дозы стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM человека x анти-CD3 мыши на мышах B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J

[00578] Токсичность ProTIA с единственным XTEN оценивали на мышах B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J (Jackson Laboratory stock #008426) с использованием суррогатной молекулы, связывающейся с белками EpCAM человека и CD3 мыши. B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J представляет собой гемизиготную линию мышей трансгенных по EpCAM человека. Исследуемыми образцами были нерасщепленная AC1783 (RSR-2295), расщепленная AC1783 и нерасщепляемая AC1916 (RSR-3058). Мышам B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J вводили различное количество нерасщепленной AC1783 (0,87, 2,6 и 8,7 нмоль/кг), расщепленной AC1783 (0,26, 0,87 и 2,6 нмоль/кг) и нерасщепляемой AC1916 (2,6, 8,7 и 26,1 нмоль/кг) и контролировали состояние здоровья и массу тела мышей в течение 14 суток после введения.

[00579] Результаты: Одна из пяти мышей, получавших 2,6 нмоль/кг AC1783, и все пять мышей, получавших 8,7 нмоль/кг AC1783, погибли на пятые сутки после введения. Одна из пяти мышей, получавших 2,6 нмоль/кг расщепленной протеазой AC1783, погибла на восьмые сутки после введения. Одна из пяти мышей, получавших 26 нмоль/кг нерасщепляемой AC1916, погибла на пятые сутки после введения. Дозозависимая потеря массы тела наблюдалась для всех исследуемых образцов (Фиг. 77). Наблюдавшиеся результаты указывают, что MTD для нерасщепленной AC1783 составляет от 0,87 до 2,6

нмоль/кг, для расщепленной AC1783 от 0,87 нмоль/кг до 2,6 нмоль/кг, а для нерасщепляемой AC1916 от 8,7 до 26,1 нмоль/кг.

[00580] Выводы: Токсичность конструкций ProTIA анти-EpCAM человека x анти-CD3 мыши, которую оценивали по уменьшению массы тела и гибели после введения однократной дозы, указывает, что XTEN маскирует активность *in vivo*, о чем свидетельствовало 10-кратное увеличение MTD у нерасщепляемой AC1916 по сравнению с расщепленной AC1783. MTD нерасщепленной AC1783 и расщепленной AC1783 были схожими, что позволяло предположить, что у трансгенных мышей Tg(TACSTD1)02Leij/J происходит расщепление AC1783 *in vivo*.

[00581] Пример 57. Определение максимальной переносимой дозы стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM человека x анти-CD3 мыши на мышах B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J

[00582] Токсичность конструкций ProTIA с одним или двумя XTEN оценивали на мышах B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J (Jackson Laboratory stock #008426) с использованием суррогатной молекулы, связывающейся с белками EpCAM человека и CD3 мыши. B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J представляет собой гемизиготную линию трансгенных по EpCAM человека мышей. Исследуемыми образцами были нерасщепленная AC1783 (RSR-2295, один XTEN), нерасщепленная AC1948 (RSR-2295, два XTEN), расщепленная AC1948 и нерасщепляемая AC1949 (RSR-3058, два XTEN). Мышам B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J вводили различные количества нерасщепленной AC1783 (0,87, 2,6 и 8,7 нмоль/кг), нерасщепленной AC1948 (0,87, 2,6, 8,7, 26,1 и 78,3 нмоль/кг), расщепленной AC1948 (0,26, 0,87, 2,6 и 8,7 нмоль/кг) или нерасщепляемой AC1949 (8,7, 26,1 и 78,3 нмоль/кг) и контролировали состояние здоровья и массу тела мышей на протяжении 14 суток после введения.

[00583] Результаты: Одна из пяти мышей, получавших 0,87 или 2,6 нмоль/кг AC1783 и четыре из пяти мышей, получавших 8,7 нмоль/кг AC1783, погибли на четвертые сутки после введения. Две из пяти мышей, получавших 8,7 нмоль/кг, 3 из 5 мышей, получавших 26,1 нмоль/кг, и все пять мышей, получавших 78,3 нмоль/кг AC1948, погибли на седьмые, четвертые и третьи сутки после введения, соответственно. Одна из пяти мышей, получавших 0,26 нмоль/кг, три из пяти мышей, получавших 2,6 нмоль/кг, и все пять мышей, получавших 8,7 нмоль/кг расщепленной протеазой AC1948, погибли на четвертые сутки после введения. Одна из пяти мышей, получавших 78,3 нмоль/кг нерасщепляемой

AC1949, погибла на четвертые сутки после введения. Дозозависимая потеря массы тела наблюдалась для всех исследуемых образцов (Фиг. 78). Наблюдаемые результаты указывают, что MTD для нерасщепленной AC1783 составляет менее 0,87 нмоль/кг, для нерасщепленной AC1948 от 2,6 до 8,7 нмоль/кг, для расщепленной AC1948 менее 0,26 нмоль/кг, и для нерасщепляемой AC1949 от 26,1 до 78,3 нмоль/кг.

[00584] Выводы: Токсичность конструкций ProTIA анти-EpCAM человека x анти-CD3 мыши, которую оценивали по уменьшению массы тела и гибели после введения однократной дозы, указывает, что два XTEN маскируют активность *in vivo*, о чем свидетельствовало по меньшей мере 100-кратное увеличение MTD для нерасщепляемой AC1949 по сравнению с расщепленной AC1948. MTD нерасщепленной AC1948 по меньшей мере в 10 раз превышала MTD расщепленной AC1948, что позволяло предположить, что только часть AC1948 расщеплялась *in vivo* у трансгенных мышей Tg(TACSTD1)02Leij/J.

[00585] Пример 58. Определение максимальной переносимой дозы стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши у мышей BALB/c.

[00586] Токсичность конструкций ProTIA оценивали у мышей BALB/c, с использованием суррогатной молекулы, связывающейся с белками EpCAM мыши и CD3 мыши. Проводили несколько исследований с применением испытуемых образцов с одним XTEN и различными последовательностями высвобождающих сегментов.

[00587] Исследуемые образцы вводили в дозе от 0,87 до 78,3 нмоль/кг (3, 4 или 5 мышам на группу) и контролировали состояние здоровья и массу тела мышей в течение 14 суток после введения.

[00588] Результаты: В Таблице 21 показаны сводные результаты, где различия в токсичности, проявляющиеся потерей массы тела и гибелью, зависели от скорости расщепления последовательности высвобождающих сегментов и способности расщепляться множеством протеаз.

[00589] Выводы: Токсичность конструкций ProTIA анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши, которую оценивали по уменьшению массы тела и гибели после введения однократной дозы, указывала, что XTEN маскирует активность *in vivo*, о чем свидетельствовало 90-кратное увеличение MTD у нерасщепляемой AC1867 по сравнению с расщепленной AC1696. MTD нерасщепленных конструкций ProTIA с одним XTEN увеличивалась в 10-

90 раз по сравнению с расщепленной AC1696, в зависимости от высвобождающего сегмента, что свидетельствовало, что способность расщепляться множеством протеаз и скорость расщепления высвобождающего сегмента влияют на активность *in vivo*.

[00590] Таблица 21: Определение MTD вариантов анти-EpCAM мыши x анти-CD3 мыши у мышей BALB/c *in vivo*

ProTIA	Высвобождающий сегмент	Доза (нмоль/кг)				
		0,87	2,6	8,7	26,1	78,3
расщепленный AC1696	расщепленный RSR-2089	40	D	D		
AC1696	RSR-2089			D	D	
AC1598	RSR-2295		N	80	D	
AC1677	RSR-2298			D		
AC1712	RSR-2485		N	N	20	
AC1713	RSR-2486		N	20	D	
AC1690	RSR-2488		N	67	60	
AC1710	RSR-2599		N	N	20	
AC1867	RSR-3058			N	N	40
AC1868	RSR-2783			N	N	20
AC1870	RSR-2789			N	100	
AC1822	RSR-2486		N	N	D	D
AC1993	RSR-3103			N	N	40
AC1995	RSR-3119			N	N	20
AC1997	RSR-3114			N	60	D
AC1999	RSR-3126			N	25	D
AC2000	RSR-3127			N	N	40

N = не наблюдалось мышей с потерей массы тела, превышавшей 10%

D = наблюдался летальный исход
число = процент мышей с потерей массы тела более 10%

[00591] Пример 59. Аффинность связывания стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3.

[00592] Аффинность связывания конструкций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с EpCAM человека и CD3 человека измеряли с помощью проточной цитометрии с использованием клеток huEp-CHO 4-12B (линия клеток CHO, трансфицированных EpCAM человека) и Jurkat.

[00593] Константы связывания ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 с экспрессирующими EpCAM и CD3 клетками измеряли при конкурентном связывании с флуоресцентно меченной, обработанной протеазой ProTIA. Флуоресцентно-меченная обработанная протеазой ProTIA была получена путем конъюгирования Alexa Fluor 647 C2 малеимида

(Thermo Fisher, кат. номер A20347) с мутантной цистеин-содержащей обработанной протеазой ProTIA (обработанная MMP-9 AC1531). Эксперименты по связыванию проводили на 10000 клеток при 4°C в течение 1 ч в общем объеме 100 мкл буфера для связывания (2% FCS, 5 мМ EDTA, HBSS). Клетки отмывали один раз холодным буфером для связывания, затем ресуспендировали в 2% формальдегиде в фосфатно-солевом буфере и немедленно анализировали на проточном цитометре Millipore Guava easyCyte. Связывание флуоресцентно меченной, обработанной протеазой AC1531, имело значение кажущейся K_d 1 нМ в отношении клеток hEp-CHO 4-12B и 6 нМ в отношении CD3+ клеток Jurkat.

[00594] Эксперименты с конкурентным связыванием проводили на 10000 клеток hEp-CHO 4-12B в присутствии 1,5 нМ флуоресцентно меченной, обработанной протеазой AC1531 при 4°C в течение 1 часа в общем объеме буфера для связывания (2% FCS, 5 мМ EDTA, HBSS) 100 мкл. Клетки отмывали один раз холодным буфером для связывания, затем ресуспендировали в 2% формальдегиде в фосфатно-солевом буфере и немедленно анализировали на проточном цитометре Millipore Guava easyCyte.

[00595] Результаты анализа связывания обобщены в Таблице 22. При конкурентном связывании с клетками hEp-CHO 4-12B в присутствии флуоресцентно меченной, обработанной протеазой AC1531 расщепленная ProTIA характеризовалась кажущейся константой связывания 0,5-0,8 нМ для hEp.2, тогда как нерасщепленная ProTIA с одним XTEN демонстрировала более слабое связывание с hEp.2 (константы связывания от 6,1 до 8,9 нМ), а нерасщепленная ProTIA с двумя XTEN демонстрировала наиболее слабое связывание с hEp.2 (константа связывания 100 нМ).

[00596] Эксперименты с конкурентным связыванием проводили на 10000 клеток Jurkat в присутствии 10 нМ флуоресцентно меченной, обработанной протеазой AC1531 при 4°C в течение 1 ч в общем объеме буфера для связывания (2% FCS, 5 мМ EDTA, HBSS) 100 мкл. Клетки отмывали один раз холодным буфером для связывания, затем ресуспендировали в 2% формальдегиде в фосфатно-солевом буфере и немедленно анализировали на проточном цитометре Millipore Guava easyCyte. При конкурентном связывании с клетками Jurkat в присутствии флуоресцентно меченной, обработанной протеазой AC1531 расщепленная ProTIA характеризовалось кажущейся константой связывания 12 нМ для hCD3.3 (Таблица 22), тогда как ProTIA с одним XTEN демонстрировала более слабое связывание с hCD3.3 (константы связывания от 128 до 158 нМ), а ProTIA с двумя XTEN

демонстрировала наиболее слабое связывание с hCD3.3 (константа связывания 412 нМ). При конкурентном связывании с клетками Jurkat в присутствии флуоресцентно меченной, обработанной протеазой AC1531 расщепленная ProTIA характеризовалось кажущейся константой связывания 75 нМ для hCD3.9, тогда как ProTIA с одним XTEN демонстрировала более слабое связывание с hCD3.9 (константы связывания 370 нМ), а ProTIA с двумя XTEN демонстрировала наиболее слабое связывание с hCD3.9 (константа связывания 930 нМ).

[00597] Выводы: Экранирование конструкций ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 одним XTEN (AC1703 и AC1968) ослабляло аффинность связывания с человеческим EpCAM на клетках hEp-CHO 4-12B приблизительно в 10 раз по сравнению с расщепленными конструкциями (расщепленная AC1695 и расщепленная AC1968). ProTIA с двумя XTEN имела аффинность связывания, сниженную приблизительно в 100 раз (AC1886 и AC1952 по сравнению с расщепленной AC1695 и расщепленной AC1968, соответственно). Экранирование конструкций анти-EpCAM x анти-CD3.3 ProTIA одним XTEN (AC1703) ослабляло аффинность связывания с CD3 человека на клетках Jurkat приблизительно в 10 раз по сравнению с расщепленной AC1695, тогда как экранирование конструкций анти-EpCAM x анти-CD3.9 ProTIA одним XTEN (AC1968) ослабляло аффинность связывания с CD3 человека на клетках Jurkat приблизительно в 5 раз по сравнению с расщепленной AC1968. ProTIA с двумя XTEN имели аффинность связывания сниженную приблизительно в 30 раз для CD3.3 и в 10 раз для CD3.9 (AC1886 по сравнению с расщепленной AC1695, и AC1952 по сравнению с расщепленной AC1968, соответственно). В целом данные демонстрируют, что один XTEN экранирует как анти-EpCAM, так и анти-CD3 домен ProTIA, а два XTEN еще больше экранируют оба домена.

[00598] Таблица 22: Константы связывания вариантов анти-EpCAM человека x анти-CD3 человека при конкурентном связывании с клетками hEp-CHO 4-12B или клетками Jurkat.

ProTIA	Высвобождающий сегмент	Кажущаяся константа связывания (нМ)	
		hEp-CHO 4-12B	Jurkat
расщепленный AC1695	расщепленный RSR-2089	0,8	12
AC1703	RSR-3058	8,9	128
AC1878	RSR-3058	4,6	158
AC1886	RSR-3058	100	412
расщепленный AC1968	расщепленный RSR-2295	0,5	75
AC1968	RSR-2295	6,1	370
AC1953	RSR-2295	6,8	
расщепленный AC1952	расщепленный RSR-2295		78
AC1952	RSR-2295	52	930

[00599] Пример 60. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3, несущей различные высвобождающие на модели развившейся опухоли молочной железы.

[00600] На модели развившейся опухоли молочной железы мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rγ^{null}) или NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ) в сутки 0 подкожно имплантировали опухолевые клетки BT-474 в присутствии матригеля. (Мыши NOG или NSG представляют собой мышей NOD/SCID, несущих мутацию IL-2Rγ, приводящую к отсутствию у мышей T-, B- и NK-клеток, дисфункции макрофагов, дендритных клеток и снижению активности комплемента). Затем им внутривенно или внутрибрюшинно вводили PBMC человека, когда объем опухоли BT-474 достигал 100-200 мм^3. Начинали введение носителя, композиции не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, несущей различные высвобождающие сайты (например, AC1714, AC1684 и AC1686), и ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 (например, AC1503), служившей положительным контролем, в виде трех внутривенных доз в неделю на протяжении четырех недель. Группа 1 получала носитель. Группы 2 и 3 получали AC1714 в дозах 0,1 мг/кг и 0,5 мг/кг, соответственно. Группы 4 и 5 получали AC1684 в дозах 0,1 мг/кг и 0,5 мг/кг, соответственно. Группа 6 получала AC1686 в дозе 0,1 мг/кг; а группа 7 получала ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 (AC1503), служившую положительным контролем, в дозе 0,5 мг/кг.

[00601] Размер опухолей измерял дважды в неделю на протяжении 45 суток при помощи штангенциркуля в двух перпендикулярных измерениях и рассчитывали объем опухоли по формуле (ширина^2 X длина) / 2. Масса тела, внешний вид и клинические симптомы, такие как судороги, тремор, вялость, гиперреактивность, пилоэрекция, затрудненное / учащенное дыхание, окраска и изъязвление опухоли и смерть, также тщательно контролировались как показатели токсичности, связанной с лечением. Индекс ингибирования роста опухоли в процентах (%TGI) рассчитывали для каждой группы воздействия по формуле: ((средний объем опухоли в контрольной группе 2, получавшей носитель – средний объем опухоли в группе, получавшей лечение ProTIA)/средний объем опухоли в контрольной группе, получавшей носитель) x 100. Воздействие, результатом которого было %TGI ≥60%, считалось терапевтически активным.

[00602] Результаты: Данные по объему опухоли представлены на Фиг. 79A и 79B. На сутки 45, в группе 1, получавшей носитель, у мышей не наблюдалось подавление опухолевого роста, а опухолевая нагрузка составляла 410±215 мм^3, показывало, что человеческие эффекторные клетки в отдельности не могут вызывать противоопухолевый эффект. Как и ожидалось, при лечении ProTIA анти-Her2 x анти-CD3, служившей положительным контролем, в дозе 0,5 мг/кг (AC1503, группа 7) в присутствии человеческих эффекторных клеток отчетливо наблюдалась регрессия опухоли, при этом %TGI составлял 95%. Лечение ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 AC1714 в дозе 0,1 мг/кг и 0,5 мг/кг (группы 2 и 3, соответственно) в присутствии человеческих эффекторных клеток подавляло опухолевый рост дозозависимым образом. В дозе 0,5 мг/кг, AC1714 была терапевтически активной, при этом %TGI составлял 94%; и терапевтически неактивной в дозе 0,1 мг/кг с показателем %TGI, равным 50%. AC1684, несущая высвобождающий сегмент, отличающийся от AC1714, была терапевтически неактивной в дозе 0,1 мг/кг (%TGI 34%), а также в дозе 0,5 мг/кг (%TGI 41%). AC1686 в дозе 0,1 мг/кг также оказывалась терапевтически неактивной (%TGI 41%).

[00603] Выводы: Данные позволяют предположить, что при дозе 0,5 мг/кг, достаточное количество ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 AC1714 эффективно расщеплялось протеазами, присутствующими *in vivo* в опухолевом окружении BT-474до высокоактивной не несущей XTEN группировки анти-EpCAM x анти-CD3, в результате чего наблюдался устойчивый противоопухолевый ответ. AC1684 и AC1686 были менее эффективны по сравнению с AC1714 в образовании активной группировки анти-EpCAM x

анти-CD3 в клетках BT-474, чтобы их эффективность была сколь-либо значимой.

Пример 61. Определение каспазы 3/7 в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EGFR x анти-CD3 *in vitro*

[00604] Перенаправленную клеточную цитотоксичность композиций ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 (например, AC1955 и AC1958) по сравнению с обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 и не расщепляемой протеазой (например, AC1991) оценивали в исследовании на клетках *in vitro* по активности каспазы 3/7 апоптотических клеток. Аналогично анализу каспазной активности, описанному в Примерах выше, PBMC смешивали с EGFR-положительными опухолевыми клетками-мишенями в соотношении 10 эффекторных клеток на 1 клетку-мишень и инкубировали при 37°C/5% CO_2 либо в течение 24 ч, либо 48 ч. Все варианты ProTIA тестировали в 12 концентрациях, полученных путем последовательных 5-кратных разведений. Исследовали следующие линии человеческих клеток-мишеней: FaDu (плоскоклеточная карцинома головы и шеи, SCCHN), SCC-9 (SCCHN), HCT-116 (колоректальная опухоль с мутацией KRAS), NCI-H1573 (колоректальная опухоль с мутацией KRAS), HT-29 (колоректальная опухоль с мутацией BRAF) и NCI-H1975 (мутация EGFR T790M). Отбирали клеточные линии, репрезентативные для колоректальной опухоли и SCCHN, имеющих EGFR дикого типа и с мутациями T790M, KRAF и BRAF.

[00605] Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость после лизиса клеток каспазу 3/7 измеряли по количеству люминогенного субстрата каспазы 3/7, расщепленного каспазой 3/7 с испусканием люминесцентного сигнала типа «свечения» (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы.

[00606] Результаты: Результаты исследования показаны на Фиг. 80A и B и в Таблице 23. При оценке на клеточной линии HCT-116 с мутацией EGFR KRAS активность необработанного протеазой варианта ProTIA AC1955 характеризовалась значением EC_{50} 3,408 пМ, а AC1958 - 778 пМ. Активность нерасщепляемой ProTIA AC1991 характеризовалась значением EC_{50} >100,000 пМ, а активность расщепленной протеазой ProTIA характеризовалась EC_{50} 0,8 пМ.

[00607] При оценке на клеточной линии HT-29 с мутацией EGFR BRAF активность необработанного протеазой варианта ProTIA AC1955 характеризовалась значением 10,930 пМ, а активность AC1958 характеризовалась EC_{50} 12100 пМ. Активность нерасщепляемой

ProTIA AC1991 характеризовалась значением EC_{50} >100000 пМ, а активность расщепленной протеазой ProTIA характеризовалась EC_{50} 0,8 пМ.

[00608] Активность двух вариантов не обработанной протеазой ProTIA (например, AC1955 и AC1958) различалась в 4 раза в клетках HCT-116 и была схожей в клетках HT-29. Однако, оба варианта были от >1000 до 15000 раз менее активными по сравнению с расщепленной ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 в двух исследованных клеточных линиях с мутациями EGFR. Как и ожидалось, нерасщепляемая ProTIA (AC1991) была наименее активной из всех исследованных вариантов PoTIA со значением EC_{50} выше 100 000 пМ.

[00609] Выводы: Результаты показывают, что ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 проявляют цитотоксическую активность в отношении клеточных линий с мутациями EGFR KRAS- и BRAF-. Цитотоксическая активность нерасщепленных ProTIA анти-EGFR x анти-CD3, несущих два XTEN (например, AC1955), была значительно замаскирована, цитотоксичность была в 4000 - 14000 ниже по сравнению с расщепленной формой.

Таблица 23. Цитотоксическая активность вариантов обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазой анти-EGFR x анти-CD3 в отношении линий клеток человека HT-29 и HCT-116 *in vitro*

ProTIA	EC50 (пМ)	
	HCT-116	HT-29
Обработанный протеазой AC1955	0,8	0,8
Необработанный протеазой AC1955	3408	10930
Необработанный протеазой AC1958	778	12100
Не расщепляемый протеазой AC1991	>100000	>100000

[00610] Пример 62. Анализ каспазы 3/7 в присутствии стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-Her2 x анти-CD3 *in vitro*

[00611] Перенаправленную клеточную цитотоксичность не обработанных протеазой композиций ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 ProTIA (например, AC2038 и AC2040) в сравнении с обработанной протеазой ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 и не расщепляемой протеазой (например, AC2039) оценивали в исследовании на клетках *in vitro* по активности каспазы 3/7 апоптотических клеток. Аналогично исследованию

цитотоксичности по активности каспазы, описанному выше, PBMC смешивали с Her2 положительными опухолевыми клеткам-мишенями в соотношении эффекторных клеток и клеток-мишеней 5:1 и инкубировали при 37°C/5% CO_2 в течение 24 ч. Все варианты ProTIA тестировали в 12 концентрациях, полученных путем последовательных 5-кратных разведений, как в исследовании каспазы, описанном выше. В исследовании использовали следующие линии клеток опухоли молочной железы человека, экспрессирующих Her2: BT-474, SK-BR-3, JIMT-1, T-47D, ZR-75-1, MCF-7, MBA-MB-231, экспрессирующую Her2 линию клеток опухоли яичника человека SK-OV-3, экспрессирующие Her2 линии клеток опухоли желудка человека NCI-N87, MNK7, SNU-216, NUGC-4, и экспрессирующую Her2 линию клеток мочевого пузыря, такую как RT-112. Клеточные линии выбирали так, чтобы они были репрезентативными не только для разных типов рака, но и экспрессировали разный уровень Her2 на клетку, при этом BT-474, SK-OV-3, SK-BR-3, NCI-N87 и MNK7 экспрессировали высокий уровень Her2; JIMT-1, SNU-216, NUGC-4 и RT-112 экспрессировали средний уровень Her2; а T-47D, ZR-75-1, MCF-7, MDA-MB-231 имели уровень экспрессии Her2 от низкого до нулевого.

[00612] Высвобожденную в культуральную надосадочную жидкость после лизиса клеток каспазу 3/7 измеряли по количеству люминогенного субстрата каспазы 3/7, расщепленного каспазой 3/7 с испусканием люминесцентного сигнала типа «свечения» (Promega Caspase-Glo 3/7 кат. номер G8091). Люминесцентный сигнал пропорционален активности каспазы.

[00613] Результаты: Результаты исследования показаны на Фиг. 81A-D и в Таблице 24. При оценке на клеточной линии BT-474 с высокой экспрессией Her2 активность варианта не обработанной протеазой ProTIA AC2038 и AC2040 характеризовалась EC_{50} 66020 пМ и 7729 пМ, соответственно. По сравнению с обработанной протеазой AC2038, активность которой характеризовалась EC_{50} 1,5 пМ, активность нерасщепляемой ProTIA (например, AC2039) характеризовалась EC_{50} >100 000 пМ.

[00614] При оценке на клеточной линии SK-OV-3 с высокой экспрессией Her2 активность вариантов не обработанной протеазой ProTIA AC2038 и AC2040 характеризовалась EC_{50} 14140 пМ и 6127 пМ, соответственно. По сравнению с обработанной протеазой AC2038, активность которой характеризовалась EC_{50} 1 пМ, активность нерасщепляемой ProTIA (например, AC2039) характеризовалась EC_{50} >100 000 пМ.

[00615] При оценке на клеточной линии JIMT-1 со средней экспрессией Her2 активность вариантов обработанной протеазой AC2038 характеризовалась EC_{50} 52 пМ, по сравнению с EC_{50} >100 000 пМ у не обработанных протеазой AC2038 и AC2040 и нерасщепляемой ProTIA AC2039.

[00616] При оценке на клеточной линии MDA-MB-231 с низкой экспрессией Her2 активность обработанной протеазой AC2038 характеризовалась EC_{50} 124 пМ по сравнению с EC_{50} >100000 пМ у не обработанных протеазой AC2038 и AC2040 и нерасщепляемой ProTIA AC2039.

[00617] Сравнение двух вариантов не обработанной протеазой ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 AC2038 и AC2040 проводили на клеточных линиях с высокой экспрессией Her2, таких как SK-OV-3 и BT-474. Разница в EC_{50}, характеризующих активность двух вариантов, была лишь от 2-кратной до 9-кратной. Важно отметить, что оба варианта ProTIA были в 440 - 14000 раз менее активными по сравнению с расщепленной ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 при исследовании на клеточных линиях BT-474 и SK-OV-3. Как и ожидалось, нерасщепляемая ProTIA AC2039 была наименее активной из исследованных вариантов PoTIA, со значением EC_{50} выше 100000 пМ.

[00618] Выводы: Результаты показывают, что, если обработанная протеазой ProTIA анти-Her2 x анти-CD3 была высокоактивной, устойчиво вызывая цитолиз на клеточных линиях с высокой и средней экспрессией Her2, активность и масштаб цитолиза был ниже при использовании клеточных линий с низкой экспрессией Her2. У ProTIA анти-Her2 x анти-CD3, несущих два XTEN (например, AC2038), цитотоксическая активность была значительно замаскирована, что сопровождалось увеличением EC_{50} по меньшей мере в 14000 раз, что совпадало с профилем активности не обработанной протеазой ProTIA, описанным выше.

Таблица 24. Цитотоксическая активность вариантов обработанной протеазой, не обработанной протеазой и не расщепляемой протеазой анти-Her2 x анти-CD3 в отношении линий клеток человека BT-474, SK-OV-3, JIMT-1 и MDA-MB-231 *in vitro*

ProTIA	EC50 (пМ)			
	BT-474	SK-OV-3	JIMT-1	MDA-MB-231
	Высокая экспрессия Her2	Высокая экспрессия Her2	Средняя экспрессия Her2	Низкая экспрессия Her2
Обработанный протеазой AC2038	1,5	1	52	~124
Необработанный протеазой AC2038	66020	14140	>100000	>100000
Необработанный протеазой AC2040	7726	6127	>100000	>100000
Не расщепляемый протеазой AC2039	>100000	>100000	>100000	>100000

[00619] Пример 63. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EGFR x анти-CD3 при раннем начале лечения на модели *in vivo* с HT-29

[00620] Экспериментальную оценку эффективности *in vivo* проводили на мышах NOD/SCID с иммунодефицитом, характеризующихся дефицитом T и B-клеток и нарушением функции естественных киллерных клеток. Мышей содержали в стерильных стандартных условиях и проводили эксперименты в соответствии с рекомендациями Институционального комитета по уходу за животными и их использованию (аккредитованного Международной ассоциацией по аттестации и аккредитации содержания лабораторных животных). Эффективность обработанной протеазой и не обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 (например, AC1955) оценивали на модели аденокарциномы человека с ксенотрансплантатом HT-29 с мутантной формой EGFR BRAF. Вкратце, в сутки 0 каждой из 6 мышей NOD/SCID имплантировали подкожно в правый бок по 3 x 10^6 клеток HT-29 (группа 1). В те же самые сутки в группах 2 - 7, каждая из которых включала по 6 мышей NOD/SCID, каждая мышь получала подкожную инъекцию в правый бок смеси по 6 X 10^6 PBMC человека и 3 x 10^6 клеток HT-29. Через четыре часа после инокуляции смеси HT-29 или HT-29/PBMC начинали лечение.

Группы 1 и 2 получали внутривенную инъекцию носителя (PBS+0,05% Tween 80), группы 3 и 4 получали инъекцию 0,05 мг/кг и 0,5 мг/кг обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3, соответственно, группы 5 и 6 получали инъекцию 0,143 мг/кг и 1,43 мг/кг не обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3, и группа 7 получала инъекцию 50 мг/кг цетуксимаба. Кроме того, группы 1 - 6 получали семь дополнительных доз, которые вводили ежедневно с 1 по 7 сутки (всего 8 доз). Группе 7 вводили цетуксимаб дважды в неделю в течение 4 недель, суммарно 8 доз.

[00621] Опухоли измеряли дважды в неделю на протяжении 335 суток при помощи штангенциркуля в двух перпендикулярных измерениях и рассчитывали объем опухолей по формуле (ширина^2 X длина) / 2. Масса тела, внешний вид и клинические симптомы, такие как судороги, тремор, вялость, гиперреактивность, пилоэрекция, затрудненное / учащенное дыхание, окраска и изъязвление опухоли и смерть, также тщательно контролировались как показатели токсичности, связанной с лечением. Индекс ингибирования роста опухоли в процентах (%TGI) рассчитывали для каждой группы воздействия по формуле: ((средний объем опухоли в контрольной группе 2, получавшей носитель – средний объем опухоли в группе, получавшей лечение ProTIA)/средний объем опухоли в контрольной группе, получавшей носитель) x 100. Воздействие, результатом которого было %TGI ≥60%, считалось терапевтически активным.

[00622] Результаты: Результаты показаны на Фиг. 82A и B. В сутки 33 в группе 1, получавшей носитель, мыши с опухолевыми клетками имели опухолевую нагрузку 250±113 мм^3. В группе 2, получавшей носитель в присутствии человеческих эффекторных клеток, прогрессирование опухоли у мышей не подавлялось, а опухолевая нагрузка составляла 238±228 мм^3, что демонстрировало, что человеческие эффекторные клетки сами по себе не могут вызывать противоопухолевый эффект. При лечении обработанной протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 в дозе 0,05 мг/кг и 0,5 мг/кг (группы 3 и 4, соответственно) в присутствии человеческих эффекторных клеток отчетливо наблюдалась регрессия опухоли, %TGI в обеих группах составлял 99%. Важно отметить, что лечение ProTIA анти-EGRF x анти-CD3 в дозе 0,143 мг/кг и 1,43 мг/кг (группы 5 и 6, соответственно) в присутствии человеческих эффекторных клеток также подавляло опухолевый рост дозозависимым образом, при этом %TGI составлял 70% в группе, получавшей дозу 0,143 мг/кг и 96% в группе, получавшей дозу 1,43 мг/кг. Эти данные позволяют предположить, что при дозах 0,143 мг/кг и 1,43 мг/кг достаточное количество

ProTIA анти-EGRF x анти-CD3 эффективно расщеплялось протеазами в опухолевом окружении *in vivo* с образованием более активной не содержащей XTEN группировки анти-EGFR x анти-CD3, следствием чего была наблюдавшаяся эффективность. Важно отметить, что в группе 7, получавшей 50 мг/кг цетуксимаба регрессия опухоли не происходила, %TGI составлял -20%.

[00623] Выводы: Результаты позволяют предположить, что не обработанная протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 (например, AC1955) может эффективно расщепляться в опухолевом окружении и эффективно подавляет прогрессирование несущей мутацию EGFR BRAF опухоли HT-29. Кроме того, не обработанная протеазой ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 превосходит по противоопухолевой активности цетуксимаб. Следует отметить, что во всех группах, получавших ProTIA и носитель, служивший контролем, не наблюдалось существенной потери массы тела, что свидетельствовало, что все воздействия хорошо переносились.

[00624] Пример 64. Противоопухолевые свойства стимулированной протеазой иммуно-активирующей композиции (ProTIA) анти-EpCAM x анти-CD3, несущей один или два XTEN, на модели развившейся опухоли молочной железы

[00625] На модели развившейся опухоли молочной железы мышам NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Rγ^{null}) или NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ) в сутки 0 подкожно имплантировали опухолевые клетки BT-474 в присутствии матригеля. (Мыши NOG или NSG представляют собой мышей NOD/SCID, несущих мутацию IL-2Rγ, приводящую к отсутствию у мышей T-, B- и NK-клеток, дисфункции макрофагов, дендритных клеток и снижению активности комплемента). Затем им внутривенно или внутрибрюшинно вводили PBMC человека, когда объем опухоли BT-474 достигал 100-200 мм^3. Начинали внутривенное введение носителя, не обработанной протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, несущей один полимер XTEN (например, AC1968) и ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, несущей два полимера XTEN (например, AC1952) в трех дозах в неделю на протяжении четырех недель. Группа 1 получала носитель, группа 2 получала AC1968 по 0,5 мг/кг, а группа 3 получала AC1952 по 0,5 мг/кг.

[00626] Размер опухолей измеряли дважды в неделю на протяжении 45 суток при помощи штангенциркуля в двух перпендикулярных измерениях и рассчитывали объем опухоли по формуле (ширина^2 X длина) / 2. Масса тела, внешний вид и клинические симптомы, такие как судороги, тремор, вялость, гиперреактивность, пилоэрекция, затрудненное /

учащенное дыхание, окраска и изъязвление опухоли и смерть, также тщательно контролировались как показатели токсичности, связанной с лечением. Индекс ингибирования роста опухоли в процентах (%TGI) рассчитывали для каждой группы воздействия по формуле: ((средний объем опухоли в контрольной группе 2, получавшей носитель – средний объем опухоли в группе, получавшей лечение ProTIA)/средний объем опухоли в контрольной группе, получавшей носитель) x 100. Воздействие, при котором %TGI в группе был ≥60%, считалось терапевтически активным.

[00627] Результаты: Результаты показаны на Фиг. 83A и B. В промежуточные сутки 27 в группе 1, получавшей носитель, прогрессирование опухоли у мышей не подавлялось, а опухолевая нагрузка составляла 219±30 мм^3, что демонстрировало, что человеческие эффекторные клетки сами по себе не могут вызывать противоопухолевый эффект. Как и ожидалось, лечение ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 AC1968 в дозе 0,5 мг/кг (группа 2) в присутствии человеческих эффекторных клеток приводило к отчетливой регрессии опухоли, при этом %TGI составлял 68%. Важно отметить, что лечение ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3 AC1952 в дозе 0,5 мг/кг (группа 3) в присутствии человеческих эффекторных клеток также вызывало устойчивый противоопухолевый ответ, характеризующийся %TGI 76%.

[00628] Выводы: Промежуточные данные позволяют предположить, что в дозе 0,5 мг/кг в опухолевом окружении BT-474 *in vivo* не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, несущая два XTEN (например, AC1952), так же эффективна, как и не обработанная протеазой ProTIA анти-EpCAM x анти-CD3, несущая один полимер XTEN (например, AC1968). Следует отметить, что во всех группах, получавших ProTIA и носитель, служивший контролем, не наблюдалось существенной потери массы тела, что свидетельствовало, что все воздействия хорошо переносились.

[00629] <u>Пример 65. Определение фармакокинетики при однократном и многократном введении ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 приматам, не являющимся человеком</u>

[00630] Фармакокинетику (PK) и общую переносимость ProTIA анти-EGFR x анти-CD3 (например, AC1955) после однократного и многократного внутривенного введения оценивали на здоровых не являющихся человеком приматах (NHP) (например, яванских макаках), ранее ее не получавших. Вкратце, одной самке и одному самцу обезьян осуществляли внутривенную инфузию через подкожную вену предплечья. За обоими животными вели наблюдение в течение двух недель. При отсутствии нежелательных

явлений животным осуществляли многократное введение, начинающееся с одной дозы каждые трое суток в течение трех недель (всего в исследовании 9 доз). В определенные моменты времени в течение всего исследования собирали кровь для анализа фармакокинетики, определения цитокинов, гематологических и биохимических показателей.

[00631] Наблюдение за животными включало измерение массы тела, потребления корма, температуры тела и наблюдения у клетки один или два раза в сутки в течение всего исследования. Наблюдали за общим состоянием здоровья и внешним видом животных, отмечали признаки боли и стресса; лихорадки, озноба, тошноты, рвоты и целостности кожных покровов. В сутки введения у животных проверяли наличие реакций в месте инъекции до и после введения ProTIA.

[00632] Количество AC1955, присутствующей в плазме, определяли при помощи сэндвич ELISA с применением EGFR-биотина, иммобилизованного на покрытом стрептавидином планшете для регистрации электрохемилюминесценции с применением конъюгированного с меткой SULFO-TAG выявляющего антитела против XTEN. Фармакокинетические параметры, включающие Cmax, Tmax, площадь под кривой, период полувыведения и профиль воздействия анализировали при помощи программы WinNonLin.

[00633] Панель цитокинов включала определение IFN–γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 и TNFα с применением платформы Meso-Scale Discovery.

[00634] Гематологическая панель включала количество лейкоцитов, количество эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците, распределение эритроцитов по объёму, количество тромбоцитов, средний объем тромбоцитов, % нейтрофилов, % лимфоцитов, % моноцитов, % эозинофилов и % базофилов.

[00635] Биохимическая панель включала определение аланин-аминотрансферазы, аспарагин-аминотрансферазы, общего белка, альбумина, щелочной фосфатазы, соотношения альбумина к глобулинам, γ-глутамилтрансферазы, глюкозы, мочевины, креатинина, кальция, общего холестерина, триглицеридов, общего билирубина, натрия, калия, хлора и креатинкиназы.

[00636] Ожидалось, что AC1955 в дозе 1,7 мкг/кг не будет вызывать никаких нежелательных явлений. Синдром высвобождения цитокинов, озноб, лихорадка, тошнота,

рвота и кожная сыпь не ожидались. Гематологические и биохимические показатели должны быть в пределах нормы. На основании ранее полученных данных о XTENилированных белках, $T_{1/2}$ для AC1955 предположительно составит 3-5 суток.

[00637] Пример 66. Определение диапазона концентраций анти-EGFR x анти-CD3 на не являющихся человеком приматах

[00638] Максимальную переносимую дозу AC1955 для NHP определяли на здоровых, не получавших ее ранее яванских макаках, в каждую группу включали одну самку и одного самца. Группа 1 получала внутривенную инфузию 25,5 мкг/кг AC1955 через подкожную вену предплечья. За обоими животными вели наблюдение в течение двух недель. При отсутствии нежелательных явлений, таких как лихорадка, озноб, кожная сыпь, тошнота, рвота, отклонение от нормы гематологических и биохимических показателей, животным осуществляли многократное введение, начинающееся с двух доз в неделю в течение 3 недель (всего 7 доз на группу). В определенные моменты времени собирали кровь для анализа фармакокинетики, определения цитокинов, иммунологических, гематологических и биохимических показателей.

[00639] При отсутствии нежелательных явлений в течение одной недели после введения первой дозы в группе 1, дозу AC1955 в группе 2 увеличивали в 3 раза до 76,5 мг/кг. Схема введения, наблюдение и забор крови в группе 2 были такими же, как в группе 1. При отсутствии нежелательных явлений в течение одной недели после введения первой дозы в группе 2, дозу AC1955 в группе 3 увеличивали еще в 3 раза до 230 мкг/кг. Трехкратное увеличение дозы AC1955 продолжали до тех пор, пока не наблюдались нежелательные явления.

[00640] Наблюдение за животными включало измерение массы тела, потребления корма, температуры тела и наблюдения у клетки один или два раза в сутки в течение всего исследования. Наблюдали за общим состоянием здоровья и внешним видом животных, отмечали признаки боли и стресса; лихорадки, озноба, тошноты, рвоты и целостности кожных покровов. В сутки введения у животных также проверяли наличие реакций в месте инъекции до и после введения ProTIA.

[00641] Количество AC1955, присутствующей в плазме, определяли при помощи сэндвич ELISA с применением EGFR-биотина, иммобилизованного на покрытом стрептавидином планшете для регистрации электрохемилюминесценции с применением конъюгированного с меткой SULFO-TAG выявляющего антитела против XTEN.

Фармакокинетические параметры, включающие Cmax, Tmax, площадь под кривой, период полувыведения и профиль воздействия анализировали при помощи программы WinNonLin.

[00642] Панель цитокинов включала определение IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IFN–γ и TNFα с применением мультиплексного анализа Beckton Dickinson.

[00643] Иммунологические показатели включали определение CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD45, CD69, Foxp3 и PD-1.

[00644] Гематологическая панель включала количество лейкоцитов, количество эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците, распределение эритроцитов по объёму, количество тромбоцитов, средний объем тромбоцитов, % нейтрофилов, % лимфоцитов, % моноцитов, % эозинофилов и % базофилов.

[00645] Биохимическая панель включала определение аланин-аминотрансферазы, аспарагин-аминотрансферазы, общего белка, альбумина, щелочной фосфатазы, соотношения альбумина к глобулинам, γ-глутамилтрансферазы, глюкозы, мочевины, креатинина, кальция, общего холестерина, триглицеридов, общего билирубина, натрия, калия, хлора и креатинкиназы.

[00646] Ожидалось, что при определенной величине дозы будет достигаться максимальная переносимая доза AC1955, вызывающая некоторые нежелательные явления. Предполагаемые нежелательные явления могли представлять собой одно из: озноба, лихорадки, тошноты, рвоты, кожной сыпи, а также отклонения от нормы гематологических или биохимических показателей, подъема цитокинов или сочетание перечисленного.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Рекомбинантный полипептид, содержащий первый высвобождающий сегмент (RS1), где RS1 является субстратом для расщепления протеазой млекопитающего.

2. Рекомбинантный полипептид по п.1, где RS1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88%, или по меньшей мере на 94%, или по меньшей мере на 100% последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 1.

3. Рекомбинантный полипептид по п. 1, где RS1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88%, или по меньшей мере на 94%, или по меньшей мере на 100% последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 2.

4. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-3, содержащий первую связывающую группировку (FBM), обладающую аффинностью связывания с маркером клетки-мишени на ткани-мишени или клетке-мишени.

5. Рекомбинантный полипептид по п. 4, где протеаза млекопитающего продуцирована тканью-мишенью, или клеткой-мишенью, или ко-локализована с тканью-мишенью или клеткой-мишенью.

6. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-5, где RS1 является субстратом для сериновой протеазы и/или цистеиновой протеазы и/или металлопротеиназы.

7. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-6, где RS1 является субстратом для протеазы, выбранной из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA и матриптазы.

8. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-7, где RS1 является субстратом для протеазы, приведенной в Таблице 3.

9. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-8, где RS1 является субстратом для расщепления множеством протеаз по одному, двум или трем сайтам расщепления.

10. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-9, где RS1 является субстратом для расщепления по двум или более сайтам расщепления двумя или более протеазами, выбранными из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA и матриптазы.

11. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-10, где RS1 является субстратом для расщепления по трем или более сайтам расщепления тремя или более

протеазами, выбранными из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA и матриптазы.

12. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-11, где скорость расщепления RS1 легумаином, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой по меньшей мере в два раза больше по сравнению со скоростью расщепления той же самой протеазой контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT, при исследовании *in vitro* в эквивалентных молярных концентрациях.

13. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-12, где скорость расщепления RS1 легумаином, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазой по меньшей мере в два раза меньше по сравнению со скоростью расщепления той же самой протеазой контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT, при исследовании *in vitro* в эквивалентных молярных концентрациях.

14. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-13, где RS1 является субстратом для расщепления протеазой, выбранной из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазы, и где RS1 имеет эффективность расщепления по меньшей мере на 0,2 $\log_2$, или 0,4 $\log_2$, или 0,8 $\log_2$, или 1,0 $\log_2$ выше в конкурентном биохимическом анализе *in vitro* по сравнению с расщеплением той же самой протеазой контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT.

15. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-14, где RS1 является субстратом для расщепления протеазой, выбранной из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA или матриптазы, и где RS1 имеет эффективность расщепления по меньшей мере на 0,2 $\log_2$, или 0,4 $\log_2$, или 0,8 $\log_2$, или 1,0 $\log_2$ ниже в конкурентном биохимическом анализе *in vitro* по сравнению с расщеплением той же самой протеазой контрольной последовательности, имеющей последовательность EAGRSANHEPLGLVAT.

16. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 4-15, где FBM представляет собой антитело, цитокин, клеточный рецептор или их фрагмент.

17. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-16, дополнительно содержащий первый удлиненный рекомбинантный полипептид (XTEN1).

18. Рекомбинантный полипептид по п. 17, где XTEN1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере приблизительно на 90%, 91%, 92%,

93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из последовательностей, приведенных в Таблице 8 или Таблице 10.

19. Рекомбинантный полипептид по п. 17 или п. 18, где XTEN1 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере приблизительно на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из AE 144_1A, AE 144_2A, AEE144_2B, AE 144_3A, AE144_3B, AE 144_4A, AE 144_4B, AE 144_5A, AE 144_6B, AE284, AE288_1, AE288_2, AE288_3, AE576, AE864, AE864_2, AE865, AE866, AE867 и AE868.

20. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 17-19, где рекомбинантный полипептид содержит FBM, RS1 и XTEN1 и в нерасщепленном состоянии имеет структурную организацию FBM-RS1-XTEN1 или XTEN1-RS1-FBM в направлении от N-конца к C-концу.

21. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 17-19, где при расщеплении RS1 протеазой млекопитающего XTEN1 и FBM высвобождаются из рекомбинантного полипептида.

22. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 4-21, где FBM представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fv, Fab, Fab′, Fab′-SH, линейного антитела и одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv).

23. Рекомбинантный полипептид по п. 22, где фрагмент антитела обладает аффинностью связывания с антигеном эффекторной клетки, экспрессирующимся на поверхности эффекторной клетки, выбранной из плазматической клетки, Т-клетки, В-клетки, цитокин-индуцированной киллерной клетки (CIK клетки), тучной клетки, дендритной клетки, регуляторной Т-клетки (RegT-клетки), хелперной Т-клетки, миелоидной клетки и NK клетки.

24. Рекомбинантный полипептид по п. 23, где эффекторная клетка представляет собой Т-клетку.

25. Рекомбинантный полипептид по п. 23, где антиген эффекторной клетки представляет собой CD3.

26. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 23-25, где фрагмент антитела содержит VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3.

27. Рекомбинантный полипептид по п. 26, где VL и VH выбраны из

последовательностей, приведенных в Таблице 4.

28. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 23-25, где фрагмент антитела содержит области, определяющие комплементарность (CDR), происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3.

29. Рекомбинантный полипептид по п. 28, где фрагмент антитела содержит область CDR-H1, область CDR-H2, область CDR-H3, область CDR-L1, область CDR-L2 и область CDR-H3, где каждая происходит из моноклонального антитела из Таблицы 4.

30. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 4-29, содержащий вторую связывающую группировку (SBM), слитую с FBM посредством пептидного линкера, где SBM представляет собой фрагмент антитела, обладающий аффинностью связывания с маркером клетки-мишени, где фрагмент антитела выбран из группы, состоящей из Fv, Fab, Fab′, Fab′-SH, линейного антитела, однодоменного антитела и одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv) или VL и VH в составе FBM и SBM образуют конфигурацию одноцепочечного диатела.

31. Рекомбинантный полипептид по п. 30, где маркер клетки-мишени представляет собой маркер на опухолевой клетке или раковой клетке.

32. Рекомбинантный полипептид по п. 30, где маркер клетки-мишени выбран из маркеров клетки-мишени, приведенных в Таблице 5.

33. Рекомбинантный полипептид по п. 30, где маркер клетки-мишени выбран из антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, Ang2 (ангиопоэтина 2), B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-

подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1).

34. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-33, где SBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени.

35. Рекомбинантный полипептид по п. 34, где VL и VH выбраны из последовательностей, приведенных в Таблице 5.

36. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-33, где фрагмент антитела содержит область CDR-H1, область CDR-H2, область CDR-H3, область CDR-L1, область

CDR-L2 и область CDR-H3, где каждая происходит из моноклонального антитела, приведенного в Таблице 5.

37. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-36, где рекомбинантный полипептид содержит FBM, SBM, RS1 и XTEN1 и в нерасщепленном состоянии имеет структурную организацию SBM-FBM-RS1-XTEN1, FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN1-RS1-SBM-FBM, XTEN1-RS1-FBM-SBM или диатело-RS1-XTEN1 или XTEN1-RS1-диатело в направлении от N-конца к C-концу, где диатело содержит VL и VH в составе FBM и SBM.

38. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-36, где рекомбинантный полипептид содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере приблизительно на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 14.

39. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-38, где при расщеплении RS1 протеазой млекопитающего и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида FBM и SBM остаются слитыми и способны связываться и соединять вместе Т-клетку, несущую антиген CD3, и опухолевую клетку, несущую маркер клетки-мишени, в исследовании *in vitro*, включающем как Т-клетки, так и опухолевые клетки.

40. Рекомбинантный полипептид по п. 39, где связывание вместе высвобожденных FBM и SBM с Т-клеткой и опухолевой клеткой приводит к цитотоксической активности против опухолевой клетки в исследовании *in vitro*, как определено посредством количественного определения лизиса клеток или высвобождения внутриклеточных компонентов.

41. Рекомбинантный полипептид по п. 40, где высвобожденные FBM и SBM рекомбинантного полипептида способны вызывать более выраженный клеточный лизис опухолевых клеток по сравнению с клеточным лизисом, вызываемым нерасщепленным рекомбинантным полипептидом в исследованиях *in vitro,* выполняемых в эквивалентных молярных концентрациях, как определено посредством количественного определения лизиса клеток или высвобождения внутриклеточных компонентов.

42. Рекомбинантный полипептид по п. 40 или п. 41, где клеточный лизис, вызываемый высвобожденными FBM и SBM рекомбинантного полипептида, по меньшей мере в 10 раз превышает, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 300 раз, или по меньшей мере в 1000 раз, или по меньшей мере в

10000 раз превышает клеточный лизис, вызываемый нерасщепленным рекомбинантным полипептидом в исследованиях *in vitro*, выполняемых в эквивалентных молярных концентрациях, как определено посредством количественного определения лизиса клеток или высвобождения внутриклеточных компонентов.

43. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 40-42, где цитотоксическая активность и/или клеточный лизис опухолевой клетки опосредован мишень-специфической активацией Т-клетки.

44. Рекомбинантный полипептид по п. 43, где активация Т-клетки, вызываемая высвобожденными FBM и SBM, по меньшей мере в 10 раз превышает, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 300 раз, или по меньшей мере в 1000 раз превышает, или по меньшей мере в 10000 раз превышает активацию, вызываемую нерасщепленным рекомбинантным полипептидом, как определено посредством количественного определения эффекторных молекул Т-клеток в исследованиях *in vitro*, выполняемых в эквивалентных молярных концентрациях.

45. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-38, где при расщеплении RS1 протеазой млекопитающего и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида FBM и SBM остаются слитыми и демонстрируют повышенную аффинность связывания с антигеном CD3 и/или маркером клетки-мишени в исследовании *in vitro*, включающем CD3 антиген или маркер клетки-мишени, по сравнению с аффинностью связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени, при исследовании в эквивалентных молярных концентрациях.

46. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-38, где аффинность связывания высвобожденной FBM с антигеном CD3 или высвобожденной SBM с маркером клетки-мишени по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 10 раз превышает, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 300 раз, или по меньшей мере в 1000 раз превышает аффинность связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени при определении в виде константы диссоциации (K_d) в исследовании *in vitro* в эквивалентных молярных концентрациях.

47. Рекомбинантный полипептид по п. 46, где константа связывания K_d высвобожденной FBM рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 составляет от 10^{-5} до 10^{-9} M, и K_d связывания высвобожденной SBM с маркером клетки-мишени составляет

от 10^{-5} до 10^{-9} М.

48. Рекомбинантный полипептид по п. 46, где аффинность связывания высвобожденной SBM с маркером клетки-мишени по меньшей мере на порядок выше по сравнению с более низкой аффинностью связывания высвобожденной FBM с антигеном CD3, при определении в виде констант K_d в исследовании *in vitro* в эквивалентных молярных концентрациях.

49. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 39-48, где исследование *in vitro* выбрано из анализа целостности клеточной мембраны, анализа смешанной клеточной культуры, FACS-анализа с иодидом пропидия, анализа поступления трипанового синего, фотометрического анализа высвобождения фермента, радиометрического анализа высвобождения 51Cr, флуориметрического анализа высвобождения европия, анализа высвобождения кальцеина-AM, фотометрического MTT-анализа, XTT-анализа, WST-1-анализа, анализа с аламаровым синим, радиометрического анализа включения 3H-Thd, клоногенного анализа для измерения активности деления клеток, флуориметрического анализа с родамином 123 для измерения митохондриального трансмембранного градиента, анализа апоптоза по экспозиции фосфатидилсерина при помощи FACS, TUNEL-анализа на основе ELISA, сэндвич-ELISA, анализа каспазной активности, анализа высвобождения из клеток LDH и анализа морфологии клеток или любой их комбинации.

50. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 17-49, дополнительно содержащий i) вторую высвобождающую группировку (RS2), которая является субстратом для расщепления протеазой млекопитающего, и ii) второй XTEN (XTEN2), где в нерасщепленном состоянии рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM, или XTEN1-RS1-диателo-RS2-XTEN2, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM.

51. Рекомбинантный полипептид по п. 50, где XTEN2 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 8 или Таблице 10.

52. Рекомбинантный полипептид по п. 50, где XTEN2 содержит аминокислотную

последовательность, идентичную по меньшей мере приблизительно на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из AE 144_1A, AE 144_2A, AEE144_2B, AE 144_3A, AE144_3B, AE 144_4A, AE 144_4B, AE 144_5A, AE 144_6B, AE284, AE288_1, AE288_2, AE288_3, AE576, AE864, AE864_2, AE865, AE866, AE867 и AE868.

53. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-52, где последовательность RS2 идентична последовательности RS1.

54. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-52, где

последовательность RS2 отличается от последовательности RS1 и содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88% или по меньшей мере на 94% последовательности, выбранной из последовательностей из Таблицы 1 или Таблицы 2.

55. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-52, где последовательность RS2 отличается от последовательности RS1 и содержит последовательность, выбранную из последовательностей из Таблицы 1 или Таблицы 2.

56. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-55, где рекомбинантный полипептид содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 15 или Таблице 18.

57. Рекомбинантный полипептид, содержащий RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, где:

а. каждый из RS1 и RS2 является субстратом для расщепления протеазой млекопитающего и каждый содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 97% или 100% последовательности, выбранной из последовательностей Таблицы 2;

б. FBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с эффекторной клеткой;

в. SBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени;

г. каждый из XTEN1 и XTEN2 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 10; и

д. рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию от N-конца к С-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH от FBM и SBM.

58. Рекомбинантный полипептид по п. 56, где эффекторная клетка представляет собой Т-клетку, а маркер клетки-мишени выбран из антигена А33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, Ang2 (ангиопоэтина 2), B7-H3, B7-H6, антигена созревания В-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 С-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом С-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-О-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы С (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора

роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина, муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1).

59. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-58, где последовательность RS2 отличается от последовательности RS1, и каждая из них является субстратом для отличной протеазы, приведенной в Таблице 3.

60. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-58, где последовательности RS1 и RS2 идентичны и каждая является субстратом для двух или более протеаз, выбранных из легумаина, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, uPA и матриптазы.

61. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-60, где при расщеплении RS1 и RS2 протеазой(ами) млекопитающего и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида FBM и SBM остаются слитыми и способны связывать и соединять вместе антиген CD3, который несет Т-клетка, и маркер клетки-мишени, который несет опухолевая клетка, в исследовании *in vitro,* включающем как Т-клетки, так и опухолевые клетки.

62. Рекомбинантный полипептид по п. 61, где способность рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии индуцировать лизис опухолевой клетки, несущей антигенный маркер клетки-мишени, в исследовании *in vitro,* включающем как Т-клетки, так и опухолевые клетки, по меньшей мере на два порядка меньше, или по меньшей мере на три порядка меньше, или по меньшей мере на четыре порядка меньше по

сравнению с лизисом, индуцированным FBM или SBM, которые высвободились из рекомбинантного полипептида при расщеплении RS1 и RS2, как определено посредством количественного определения клеточного лизиса или высвобождения внутриклеточных компонентов при определении в эквивалентных молярных концентрациях.

63. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-60, где аффинность связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени в исследовании *in vitro*, включающем антиген CD3 или маркер клетки-мишени, по меньшей мере на порядок меньше, при определении в виде константы K_d, по сравнению с аффинностью связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида, не содержащего второй высвобождающий сегмент и второй XTEN, с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени, при исследовании в эквивалентных молярных концентрациях.

64. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 50-60, где аффинность связывания нерасщепленного рекомбинантного полипептида с антигеном CD3 или с маркером клетки-мишени в исследовании *in vitro*, включающем антиген CD3 или маркер клетки-мишени, по меньшей мере на два порядка меньше, или по меньшей мере на три порядка меньше, или по меньшей мере на четыре порядка меньше, при определении в виде константы K_d в исследовании *in vitro*, по сравнению с аффинностью связывания с антигеном CD3 или маркером клетки-мишени FBM или SBM, которые высвободились из рекомбинантного полипептида при расщеплении RS1 и RS2, при исследовании в эквивалентных молярных концентрациях.

65. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 61-64, где исследование *in vitro* выбрано из анализа целостности клеточной мембраны, анализа смешанной клеточной культуры, анализа конкурентного связывания на основе клеток, FACS-анализа с иодидом пропидия, анализа поступления трипанового синего, фотометрического анализа высвобождения фермента, радиометрического анализа высвобождения 51Cr, флуориметрического анализа высвобождения европия, анализа высвобождения кальцеина-AM, фотометрического MTT-анализа, XTT-анализа, WST-1-анализа, анализа с аламаровым синим, радиометрического анализа включения 3H-Thd, клоногенного анализа для измерения активности деления клеток, флуориметрического анализа с родамином 123 для измерения митохондриального трансмембранного градиента, анализа апоптоза по экспозиции фосфатидилсерина при помощи FACS, TUNEL-анализа на основе ELISA,

сэндвич-ELISA, анализа каспазной активности, анализа высвобождения из клеток LDH и анализа морфологии клеток или любой их комбинации.

66. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-65, где при введении рекомбинантного полипептида субъекту с опухолью высвобождающий(е) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида способен(ны) расщепляться, оказываясь в непосредственной близости от опухоли, где опухоль или окружающая ткань экспрессирует одну или более протеаз, для которых высвобождающий(е) сегмент(ы) является(ются) субстратом.

67. Рекомбинантный полипептид по п. 66, где при расщеплении высвобождающего(их) сегмента(ов) протеазой и высвобождении FBM и SBM из рекомбинантного полипептида слитые FBM и SBM способны связывать и соединять вместе Т-клетку, несущую антиген CD3, и опухолевую клетку, несущую опухолеспецифичный маркер, который является лигандом для SBM у субъекта.

68. Рекомбинантный полипептид по п. 67, где при связывании вместе Т-клетки, несущей антиген CD3, и опухолевой клетки, несущей маркер опухолевой клетки, высвобожденными FBM и SBM, с образованием иммунологического синапса связывание приводит к высвобождению одной или более Т-клеточных эффекторных молекул Т-клеткой.

69. Рекомбинантный полипептид по п. 68, где одна или более эффекторных молекул выбраны из TNF-альфа, IFN-гамма, интерлейкина 2, перфорина и гранзимов.

70. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 67-69, где при связывании вместе Т-клетки, несущей антиген CD3 и опухолевой клетки, несущей опухолеспецифичный маркер, лизис опухолевой клетки осуществляется Т-клеточными эффекторными молекулами.

71. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-70, где нерасщепленный рекомбинантный полипептид демонстрирует конечный период полувыведения после введения однократной дозы субъекту, который по меньшей мере в пять раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз или 100 раз превышает конечный период полувыведения слитых FBM и SBM, не связанных с рекомбинантным полипептидом, когда нерасщепленный рекомбинантный полипептид и слитые FBM и SBM вводят субъекту в эквивалентной молярной дозе.

72. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-70, где после введения

однократной терапевтически эффективной дозы рекомбинантного полипептида субъекту, имеющему одну или более опухолеассоциированных протеаз, способных расщеплять высвобождающий(е) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида, слитые FBM и SBM, отщепленные и высвобожденные из рекомбинантного полипептида, демонстрируют конечный период полувыведения по меньшей мере в пять раз, 10 раз, или 20 раз, или 30 раз, или 50 раз, или 100 раз меньше конечного периода полувыведения соответствующего рекомбинантного полипептида, который не расщепляется у субъекта.

73. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-70, где после введения однократной терапевтически эффективной дозы рекомбинантного полипептида субъекту, имеющему опухолеассоциированную протеазу, способную расщеплять высвобождающий(ие) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида, концентрация Cmax высвобожденных FBM и SBM в плазме не превышает приблизительно 0,01 нг/мл, или приблизительно 0,1 нг/мл, или приблизительно 1 нг/мл, или приблизительно 10 нг/мл, или приблизительно 100 нг/мл.

74. Рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-70, где после введения однократной терапевтически эффективной дозы рекомбинантного полипептида субъекту, имеющему опухолеассоциированную протеазу, способную расщеплять высвобождающий(ие) сегмент(ы) рекомбинантного полипептида, площадь под кривой зависимости концентрации высвобожденных FBM и SBM в плазме от времени по меньшей мере в 10 раз ниже, или по меньшей мере в 30 раз ниже, или по меньшей мере в 100 раз ниже по сравнению с площадью под кривой нерасщепленного рекомбинантного полипептида у субъекта.

75. Рекомбинантный полипептид по п. 66, где субъект выбран из группы, состоящей из мыши, крысы, обезьяны, собаки и человека.

76. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-75 и один или более чем один фармацевтически приемлемый эксципиент.

77. Фармацевтическая композиция по п. 76, где композиция составлена для внутрикожного, подкожного, внутривенного, внутриартериального, интраабдоминального, внутрибрюшинного, внутриоболочечного или внутримышечного введения.

78. Фармацевтическая композиция по п. 76, где композиция находится в жидкой форме.

79. Фармацевтическая композиция по п. 78, где композиция находится в

предварительно заполненном шприце для однократной инъекции

80. Фармацевтическая композиция по п. 76, где композиция составлена в виде лиофилизированного порошка, подлежащего растворению перед введением.

81. Применение рекомбинантного полипептида по любому из пп. 30-70 в получении лекарственного средства для лечения заболевания у субъекта.

82. Применение по п. 81, где заболевание выбрано из группы, состоящей из карциномы, лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, ER/PR+ рака молочной железы, Her2+ рака молочной железы, трижды негативного рака молочной железы, рака толстой кишки, рака толстой кишки со злокачественным асцитом, слизеобразующих опухолей, рака предстательной железы, рака головы и шеи, рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, опухоли Вильмса, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, рака пищевода, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, арренобластомы, аденокарциномы, саркомы и В-клеточного хронического лимфолейкоза.

83. Способ лечения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту, которому это необходимо, одной или более терапевтически эффективных доз рекомбинантного полипептида или фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный полипептид по любому из пп. 17-75.

84. Способ по п. 83, где заболевание выбрано из группы, состоящей из карцином, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака предстательной железы, рака головы и шеи, любой формы рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, злокачественных

новообразований эпителия со злокачественным асцитом, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желуточного рака, рака пищевода, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, аденокарциномы, сарком любого происхождения, первичных гемобластозов, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастению гравис, базедову болезнь, тиреоидит Хашимото или синдром Гудпасчера.

85. Способ по п. 83 или п. 84, где фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид вводят субъекту в виде одной или более терапевтически эффективных доз дважды в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или ежемесячно.

86. Способ по любому из пп. 83-85, где фармацевтическую композицию или рекомбинантный полипептид вводят субъекту в виде одной или более терапевтически эффективных доз в течение периода времени по меньшей мере две недели, или по меньшей мере один месяц, или по меньшей мере два месяца, или по меньшей мере три месяца, или по меньшей мере четыре месяца, или по меньшей мере пять месяцев, или по меньшей мере шесть месяцев.

87. Способ по любому из пп. 83-86, где дозу вводят внутрикожно, подкожно, внутривенно, внутриартериально, интраабдоминально, внутрибрюшинно, внутриоболочечно или внутримышечно.

88. Способ по любому из пп. 83-87, где дозу вводят в виде болюса или посредством инфузии от 5 минут до 96 часов, обеспечивающей переносимость и максимальную безопасность и эффективность.

89. Способ по любому из пп. 83-88, где доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг,

по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг.

90. Способ по любому из пп. 83-88, где первоначальная доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,005 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,01 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,02 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,04 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,08 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, а последующая доза выбрана из группы, состоящей из по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,12 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,14 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,16 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,18 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,20 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,22 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,24 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,26 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,27 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,28 мг/кг, по меньшей мере 0,3 мг/кг, по меньшей мере 0,4, мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,6 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,7 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,8 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 0,9 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг.

91. Способ по любому из пп. 83-88, где в результате введения субъекту концентрация рекомбинантного полипептида в плазме составляет по меньшей мере приблизительно от 0,1 нг/мл до по меньшей мере приблизительно 2 нг/мл или более у субъекта в течение по меньшей мере приблизительно 3 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток или по меньшей мере приблизительно 21 суток.

92. Способ по любому из пп. 83-91, где субъект выбран из группы, состоящей из мыши, крысы, обезьяны и человека.

93. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 76-80 или рекомбинантный полипептид по любому из пп. 30-70 для применения в способе лечения заболевания, включающем введение фармацевтической композиции или рекомбинантного полипептида субъекту, с заболеванием, возможно по схеме лечения, включающей одно или более последовательных введений терапевтически эффективной дозы.

94. Фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид для применения по п. 93, где заболевание выбрано из группы, состоящей из карцином, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, бластомы, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака предстательной железы, рака головы и шеи, любой формы рака кожи, меланомы, рака мочеполовых путей, рака яичников, рака яичников со злокачественным асцитом, карциноматоза брюшины, серозной карциномы матки, рака эндометрия, рака шейки матки, колоректального рака, злокачественных новообразований эпителия со злокачественным асцитом, рака матки, мезотелиомы брюшины, рака почки, рака легкого, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, желудочного рака, рака пищевода, рака желудка, рака тонкой кишки, рака печени, гепатокарциномы, гепатобластомы, липосаркомы, рака поджелудочной железы, рака желчного пузыря, рака желчевыводящих путей, карциномы слюнной железы, рака щитовидной железы, эпителиального рака, аденокарциномы, сарком любого происхождения, первичных гемобластозов, включая острые или хронические лимфолейкозы, острые или хронические миелолейкозы, миелопролиферативные неоплазии или миелодиспластические нарушения, миастении гравис, базедовой болезни, тиреоидита Хашимото или синдрома Гудпасчера.

95. Фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид для применения по п. 93 или п. 94, где схема лечения является частью определенного цикла лечения.

96. Фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид для применения по п. 95, где указанный цикл лечения включает введение фармацевтической композиции или рекомбинантного полипептида дважды в неделю, один раз в неделю, один раз в 10 суток, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц в каждом цикле лечения.

97. Фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид для

применения по любому из пп. 93-96, где схема лечения приводит к улучшению клинического параметра или конечной точки, связанной с заболеванием субъекта.

98. Фармацевтическая композиция или рекомбинантный полипептид для применения по п. 97, где клинический параметр или конечная точка выбраны из группы, состоящей из уменьшения опухоли в виде полного, частичного или неполного ответа; времени до прогрессирования, времени до констатации отсутствия эффекта лечения, реакции биомаркера; выживаемости без прогрессирования; выживаемости без заболевания; времени до рецидивирования; времени до метастазирования; времени общей выживаемости; улучшения качества жизни и улучшения симптомов или любой их комбинации.

99. Набор, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 76-80, контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку, которые находятся на контейнере или ассоциированы с ним.

100. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая (а) полинуклеотид, кодирующий рекомбинантный полипептид по любому из пп. 1-75; или (б) комплемент полинуклеотида (а).

101. Экспрессионный вектор, содержащий полинуклеотидную последовательность по п. 100 и рекомбинантную регуляторную последовательность, функционально связанную с указанной полинуклеотидной последовательностью.

102. Выделенная клетка-хозяин, содержащая экспрессионный вектор по п. 101.

103. Клетка-хозяин по п. 102, которая является прокариотической.

104. Клетка-хозяин по п. 103, которая представляет собой *E. coli*.

105. Способ изготовления активируемой рекомбинантной полипептидной композиции, включающий:

а. культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновокислотную конструкцию, кодирующую активируемый рекомбинантный полипептид в условиях, приводящих к экспрессии активируемого рекомбинантного полипептида, где активируемый рекомбинантный полипептид содержит RS1, RS2, FBM, SBM, XTEN1 и XTEN2, где:

(i) каждый из RS1 и RS2 является субстратом для расщепления протеазой млекопитающего и каждый содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 88%, или по меньшей мере на 94%, или на 100% последовательности,

выбранной из последовательностей Таблицы 1 или Таблицы 2;

(ii) FBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего специфичностью связывания с CD3;

(iii) SBM представляет собой фрагмент антитела, содержащий VL и VH, происходящие из моноклонального антитела, обладающего аффинностью связывания с маркером клетки-мишени, выбранным антигена A33, альфа-фетопротеина (AFP), интегрина альфа 4, Ang2 (ангиопоэтина 2), B7-H3, B7-H6, антигена созревания B-клеток (BCMA), ракового антигена 19-9 (CA19-9), ракового антигена 125 (CA-125), карбоангидразы 6 (CA6), карбоангидразы IX (CAIX), CEACAM5, cMET, CTLA4, рецептора 1 хемокинов с мотивом CC (CCR1), рецептора 2 хемокинов с мотивом CC (CCR2), рецептора 3 хемокинов с мотивом CC (CCR3), рецептора 4 хемокинов с мотивом CC (CCR4), рецептора 5 хемокинов с мотивом CC (CCR5), рецептора 6 хемокинов с мотивом CC (CCR6), рецептора 7 хемокинов с мотивом CC (CCR7), рецептора 8 хемокинов с мотивом CC (CCR8), рецептора 9 хемокинов с мотивом CC (CCR9), кластера дифференциации 7 (CD7), CD22, CD70, CD79a, CD79b, CD19, CCR8, CEA, βhCG, Льюис-Y, CA19-9, CA-125, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD30, CD44v6, CD47, CD56 (NCAM), CD63, CD79b, CD123, CD133, CD138, CD166, клаудина-1, клаудина 18.2, лектиноподобной молекулы-1 C-типа (CLL-1), представителя семейства белков с лектиновым доменом C-типа 12 (CLEC12), антигена Cora, дельта-подобного канонического notch лиганда 3 (DDL3), десмоглеина 4, дельта-подобного неканонического notch лиганда 1 (DLK1), эктонуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы 3 (ENPP3), EGFR, EGFRvIII, EpCAM, эндосиалина (CD248), варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII), EphA2, антигена F19, фетального ацетилхолинового рецептора (fnAChR), антигена активации фибробластов (FAP), Fos-родственного антигена 1 (FRA1), рецептора 1 фолатов (FOLR1), фукозил GM1, G250, ганглиозида G3, глипикана-3 (GPC3), 9-O-ацетил-GD3, GM2, глюкокортикоид-индуцированного рецептора TNF (GITR), глобогексаозилцерамида (globo-H), GD2, глипикана 3 (GPC3), гуанилилциклазы C (GCC), HER2, HER2 neu, HER3, HER4, HER1, IL13Rα2, рецептора инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), белка лизосомальной мембраны 1 (LAMP1), молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), антигена 6 лимфоцитов (Ly-6), хондроитинсульфатного протеогликана меланомы (MCSP), металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP), мезотелина,

муцина 1 (MUC1), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC16, рецептора мюллерова ингибирующего вещества типа II (MISIIR), молекулы клеточной адгезии нектина 4 (нектина-4), 6-трансмембранного эпителиального антигена простаты (STEAP), антигена 1 плазматической клетки, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), белка запрограммированной смерти клетки 1 (PD1), лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), PSMA, тирозинкиназоподобного орфанного рецептора 1 (ROR1), сиалированного антигена Tn (s TN), натрий-зависимого фосфат-транспортирующего белка 2b (NaPi2b), белка Sonic Hedgehog (Shh), SAS, представителя 7 семейства SLAM (SLAM7), рецептора соматостатина 2 (SSTR2), аутоантигенного белка спермы 17 (SP17), TAG72, антигена Томсена-Фриденрейха (TF-антигена), опухолеассоциированного антигена L6 (TAL6), гликопротеина трофобласта (5T4), Trop-2, Wue-1, VEGFR1, VEGFR2 и белка опухоли Вильмса (WT1);

(iv) каждый из XTEN1 и XTEN2 содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере приблизительно на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в Таблице 8 или Таблице 10;

(v) рекомбинантный полипептид имеет следующую структурную организацию в направлении от N-конца к C-концу: XTEN1-RS1-SBM-FBM-RS2-XTEN2, XTEN1-RS1-FBM-SBM-RS2-XTEN2, XTEN2-RS2-SBM-FBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-FBM-SBM-RS1-XTEN1, XTEN2-RS2-диателo-RS1-XTEN1, где диателo содержит VL и VH, входящие в FBM и SBM;

б. получение композиции активируемого рекомбинантного полипептида.

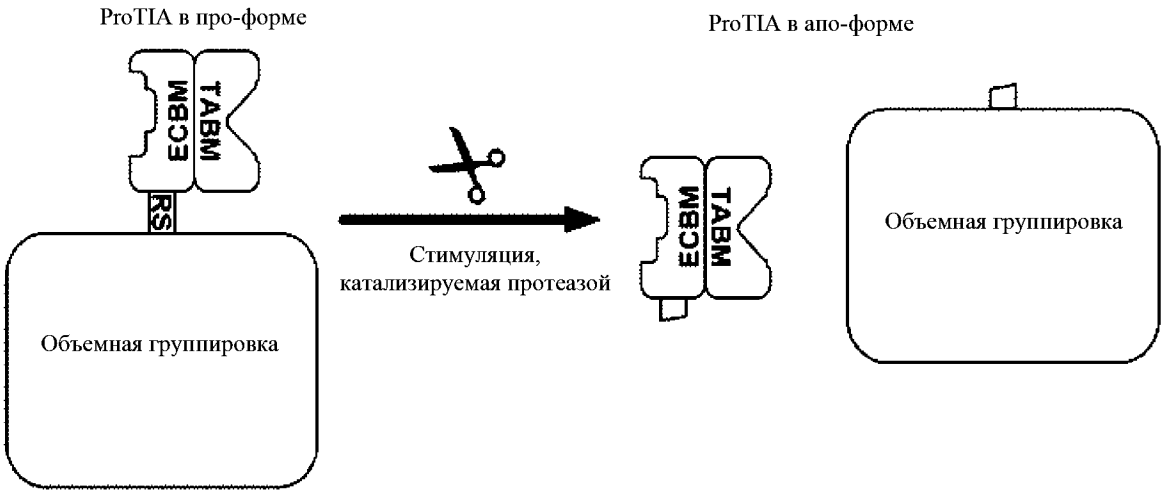
106. Способ по п. 105, где активируемый рекомбинантный полипептид активируется путем расщепления RS1 и RS2 одной или более чем одной протеазой, способной расщеплять RS1 и RS2, в результате чего FBM и SBM высвобождаются из композиции, при этом FBM и SBM остаются слитыми.

107. Способ по п. 105, где XTEN1 и XTEN2 активируемого рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии препятствуют специфическому связыванию FBM с CD3 и SBM с маркером клетки-мишени, так что константа диссоциации (K_d) FBM активируемого рекомбинантного полипептида в нерасщепленном состоянии в отношении CD3 или SBM в отношении маркера клетки-мишени по меньшей мере в 100 раз выше по сравнению с FBM или SBM, высвобожденными из активируемого рекомбинантного

полипептида при расщеплении RS1 и RS2 при определении в исследованиях *in vitro*, включающих маркер клетки-мишени, в эквивалентных молярных концентрациях.

ECA	Антиген эффекторной клетки	Антиген (рецептор) на поверхности эффекторной клетки
ECBM	Группировка, связывающая эффекторную клетку	Связывающая группировка (белковый домен, пептид, синтетический лиганд), специфически связывающийся с антигеном эффекторной клетки
Эффекторная клетка ECA	Эффекторная клетка	Клетка, способная уничтожать или подавлять опухолевую клетку или клетку, являющуюся частью опухолевой ткани. Эффекторные клетки могут представлять собой Т-клетки, NK-клетки
TA	Опухолевый антиген	Антиген (рецептор), сверхэкспрессирующийся на клетках опухоли
TABM	Группировка, связывающая опухолевый антиген	Связывающая группировка (белковый домен, пептид, синтетический лиганд), которая специфически связывается с опухолевым антигеном
Опухоле-ассоциир. клетка TA	Опухоле-ассоциированная клетка	Клетка, являющаяся частью опухоли. Это может быть опухолевая клетка или другие типы клеток, образующие опухолевую массу, такие как стромальные клетки
Объемная группировка	Объемная группировка	Связывающая группировка представляет собой белок или полимер более крупного размера, чем ECBM и TABM. Может представлять собой альбумин, альбумин-связывающий домен, Fc, PEG, XTEN
XTEN		
RS	Сайт высвобождения	Сайт высвобождения представляет собой аминокислотную последовательность, которая может расщепляться опухолеассоциированной протеазой
	Опухолеассоциированная протеаза	Опухолеассоциированная протеаза представляет собой протеолитический фермент, который появляется в межклеточном пространстве опухолевой ткани
	ProTIA	Стимулированный протеазой иммунный активатор
	ProTIA в про-форме	Молекула ProTIA перед стимуляцией, катализируемой протеазой
	ProTIA в апо-форме	Молекула ProTIA, лишившаяся объемного домена вследствие стимуляции, катализируемой протеазой

Фиг. 1

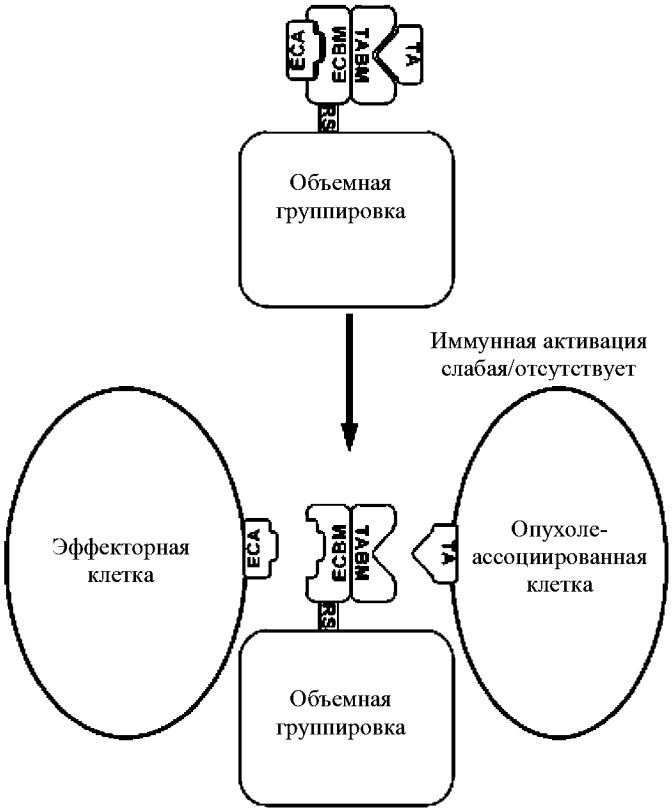


- Ограниченная элиминация почками
- Ограниченный захват нормальными тканями
- Ограниченная диффузия в тканях
- Ограниченное взаимодействие с эффекторными клетками
- Ограниченное взаимодействие с опухолеассоциированными клетками

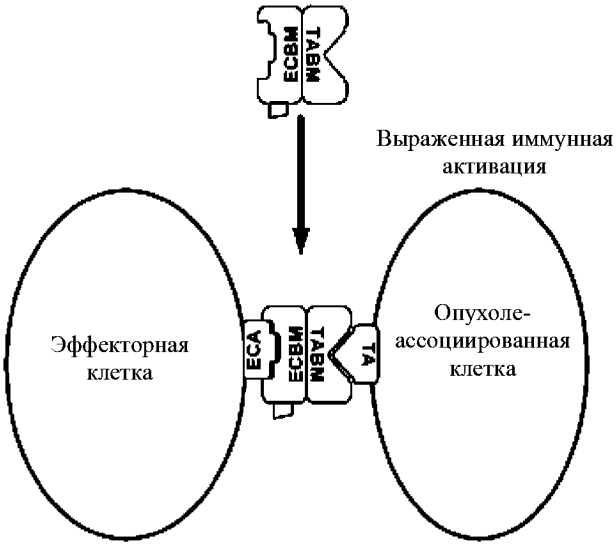
- Усиленная элиминация почками
- Усиленный захват нормальными тканями
- Усиленная диффузия в тканях
- Усиленное взаимодействие с эффекторными клетками
- Усиленное взаимодействие с опухолеассоциированными клетками

Фиг. 2

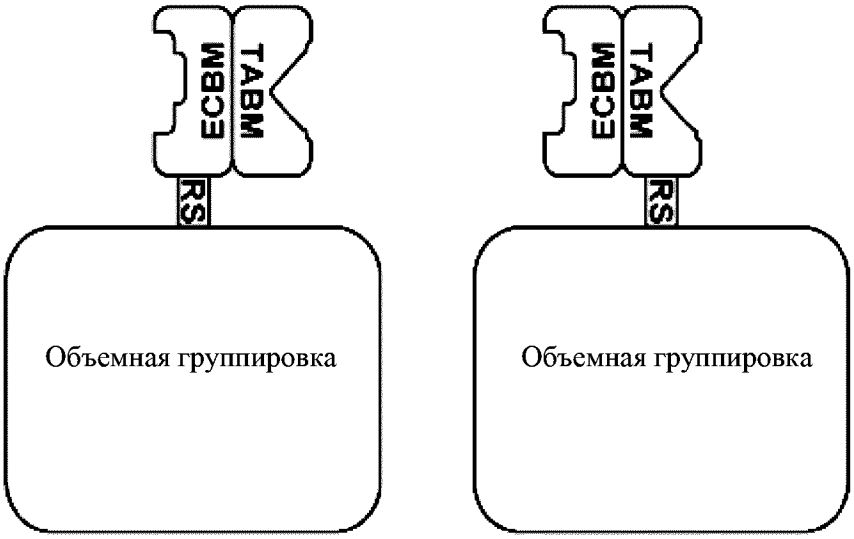
Фиг. 3A



Фиг. 3B



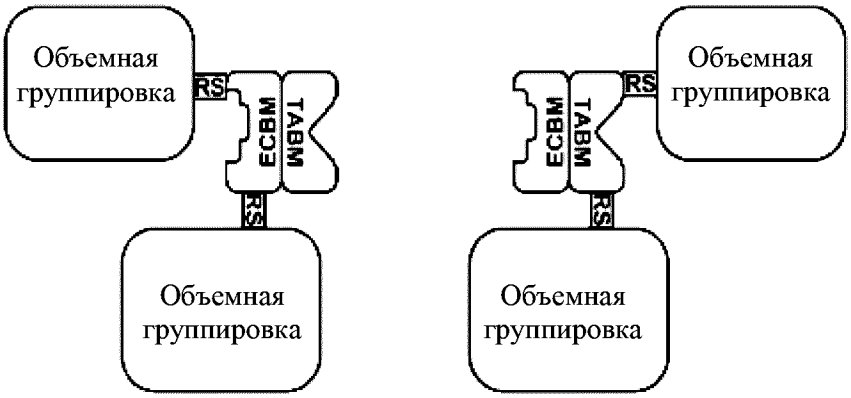
Фиг. 3


ECBM
TABM
RS
Объемная группировка
ECBM
TABM
RS
Объемная группировка

Фиг. 4

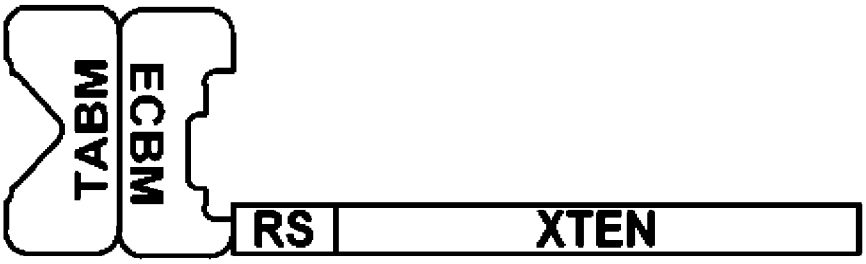
Фиг. 5A

Фиг. 5B

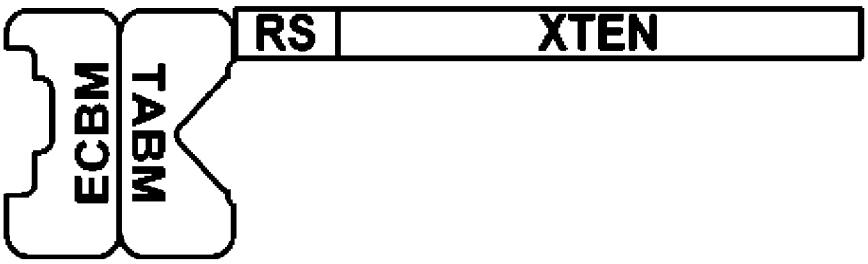


Фиг. 5

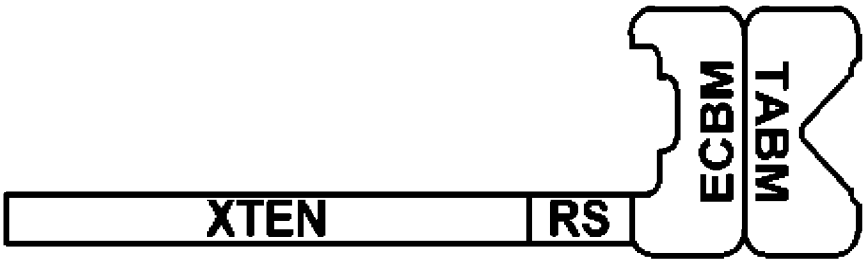
Фиг. 6A



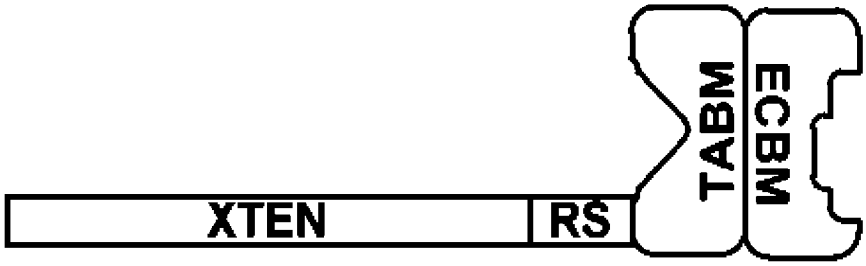
Фиг. 6B



Фиг. 6C

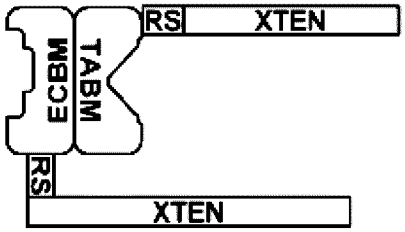


Фиг. 6D

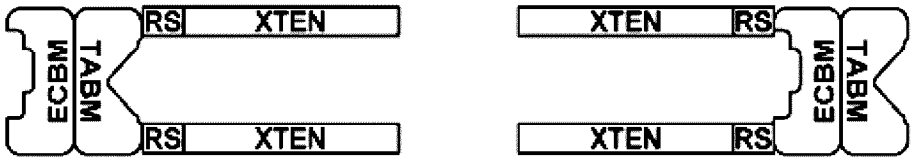


Фиг. 6

Фиг. 7A

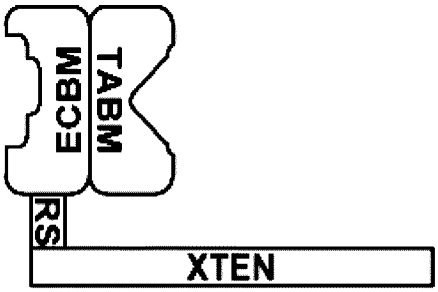


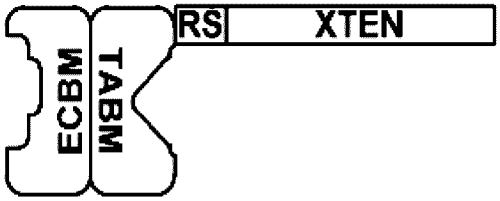
Фиг. 7B



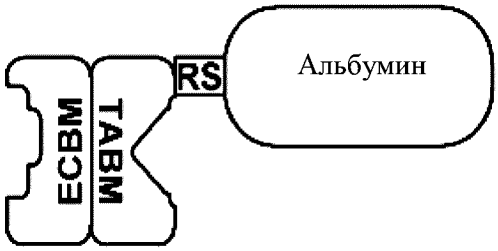
Фиг. 7

Фиг. 8A

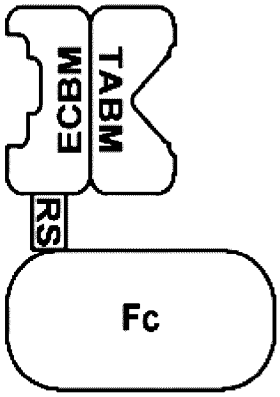


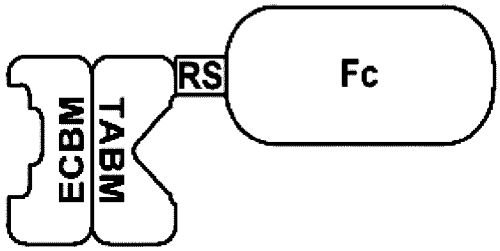


Фиг. 8B



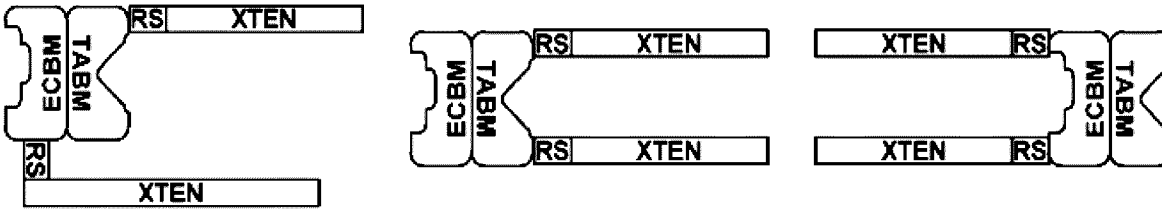
Фиг. 8C



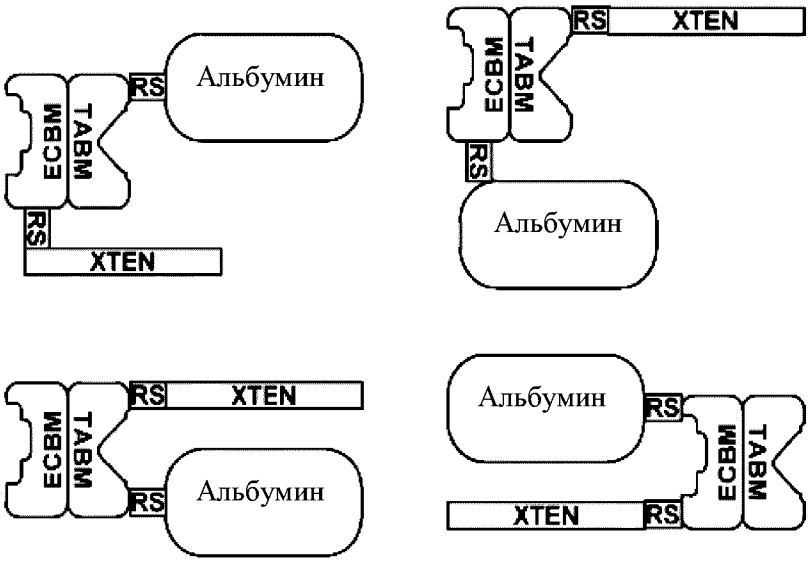


Фиг. 8

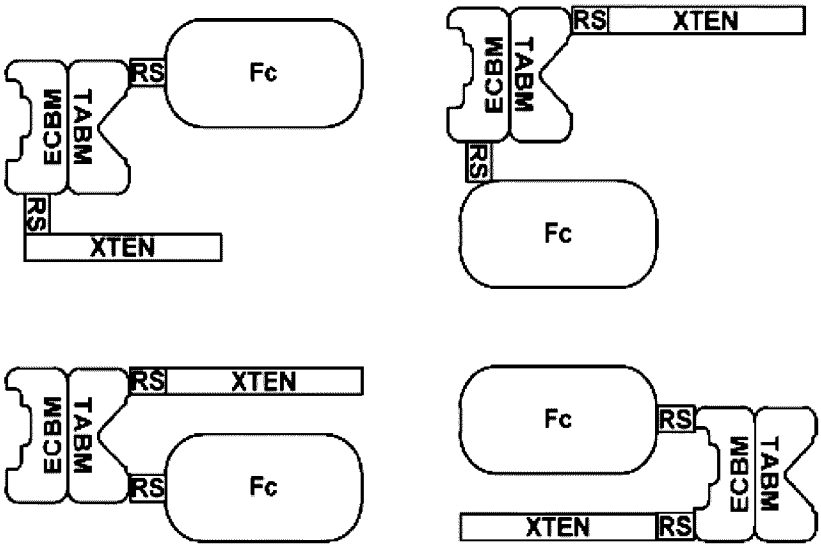
Фиг. 9A



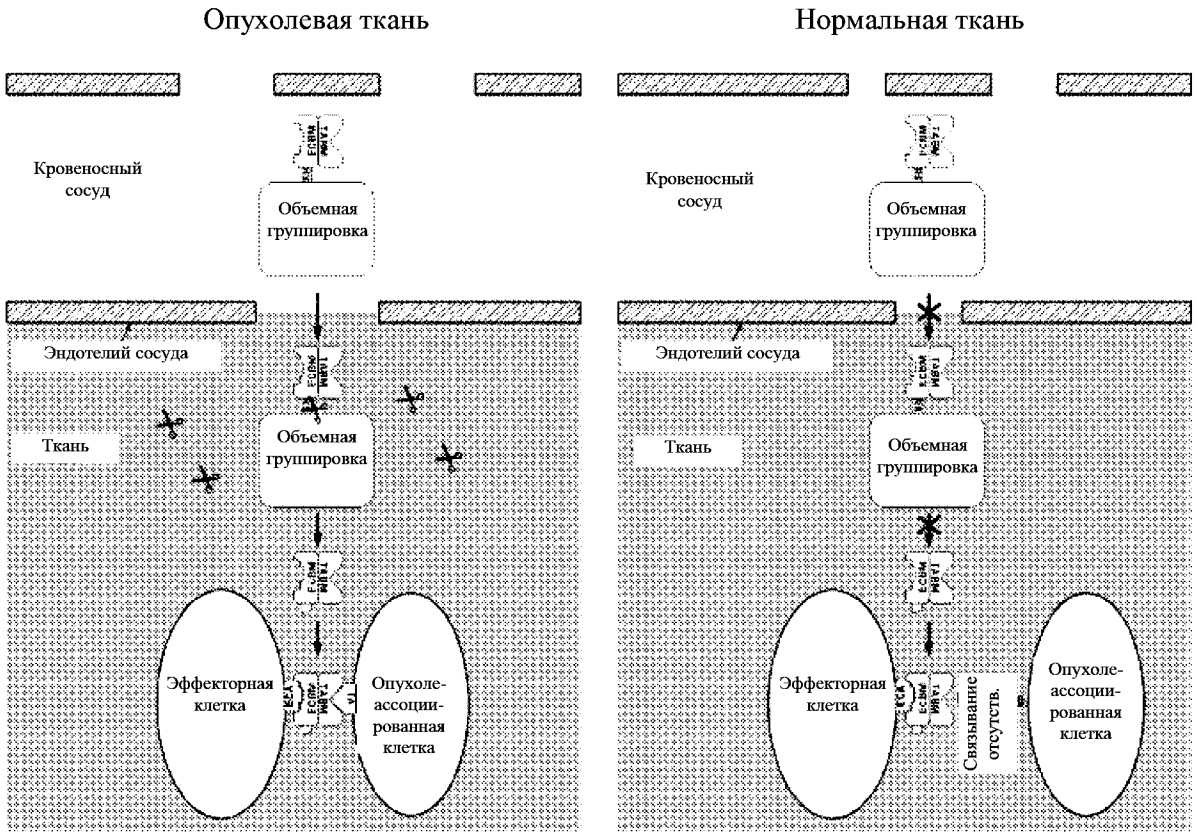
Фиг. 9B



Фиг. 9C

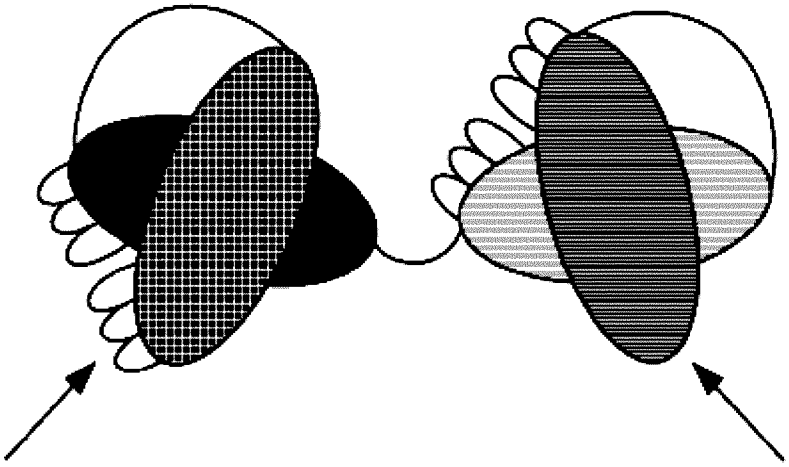


Фиг. 9

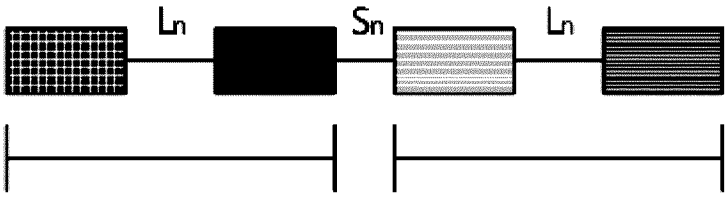

Опухолевая ткань
Нормальная ткань
Кровеносный сосуд
Объемная группировка
Эндотелий сосуда
Ткань
Объемная группировка
Эффекторная клетка
Опухоле-ассоциированная клетка
Кровеносный сосуд
Объемная группировка
Эндотелий сосуда
Ткань
Объемная группировка
Эффекторная клетка
Связывание отсутств.
Опухоле-ассоциированная клетка

Фиг. 10

Тандемная конфигурация scFv

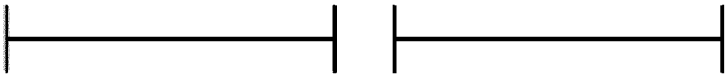


N-конец C-конец



Связывающий домен 1 Связывающий домен 2

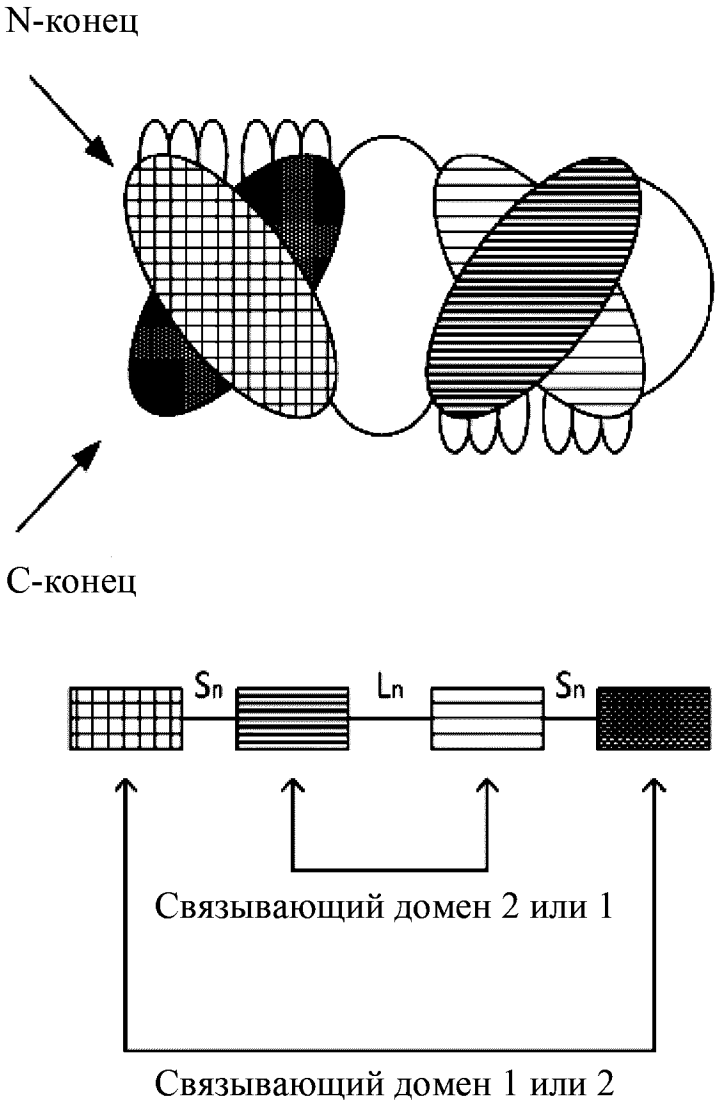
ИЛИ



Связывающий домен 2 Связывающий домен 1

Фиг. 11

Конфигурация диатела



Фиг. 12

Фиг. 13A

Общий дизайн конструкции

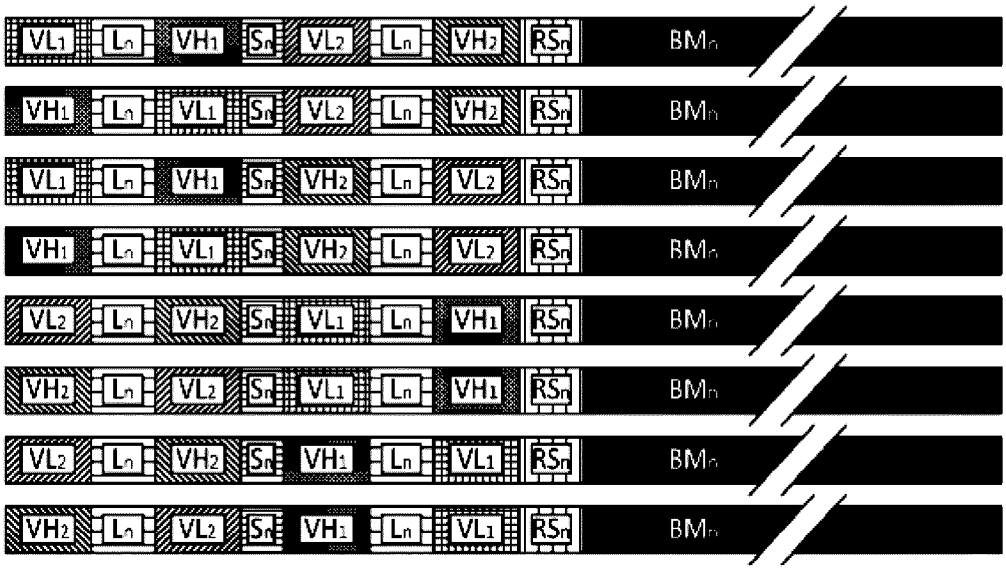
Сегмент 2

Сегмент 1

Сегмент 3

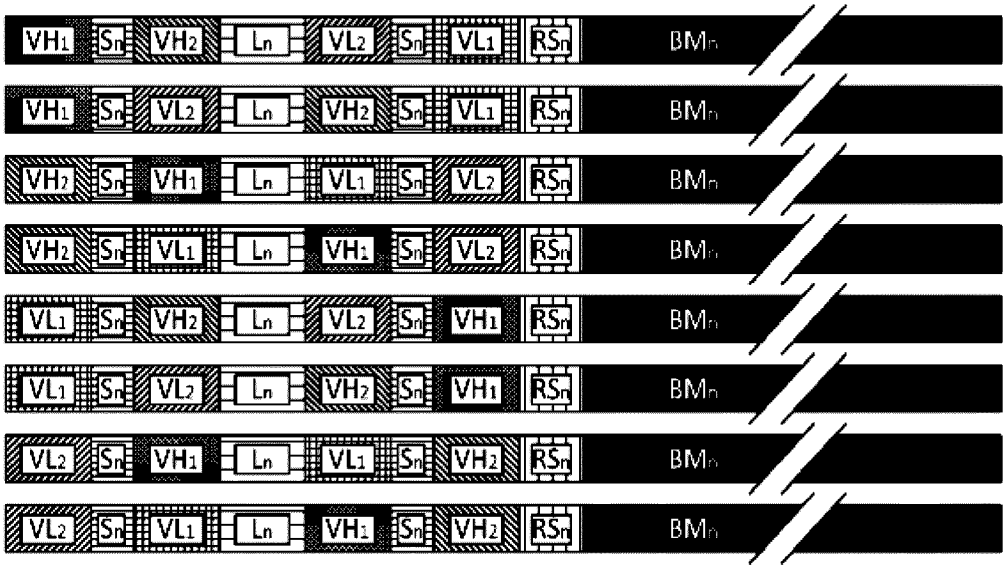
Фиг. 13B

конструкции тандемных scFv



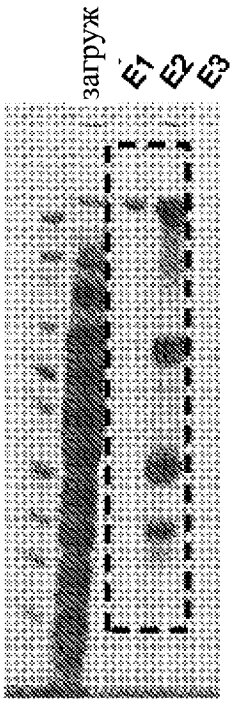
Фиг. 13C

конструкции диател

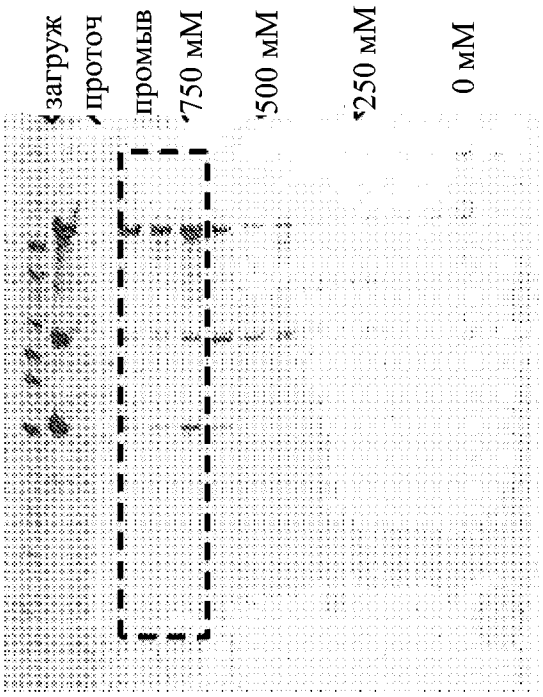


Фиг. 13

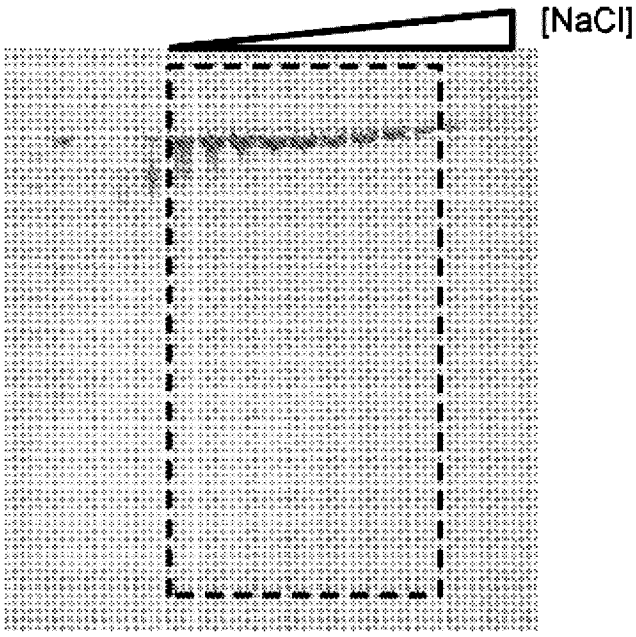
Фиг. 14A



Фиг. 14B

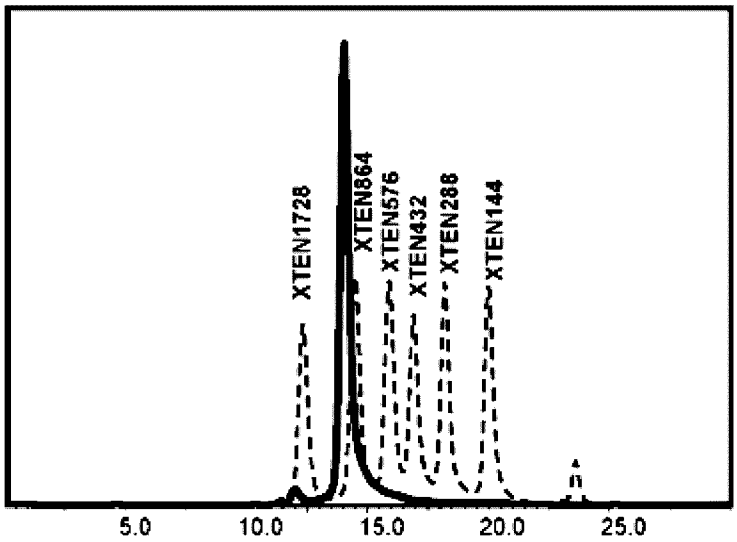


Фиг. 14C



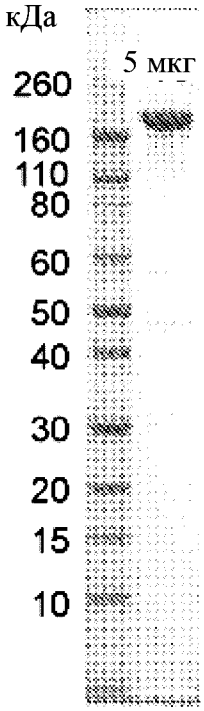
Фиг. 14

Фиг. 15A



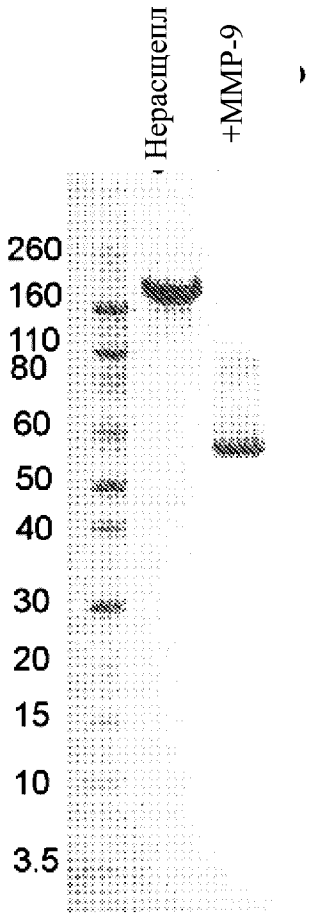
Время удерживания (мин)

Фиг. 15B

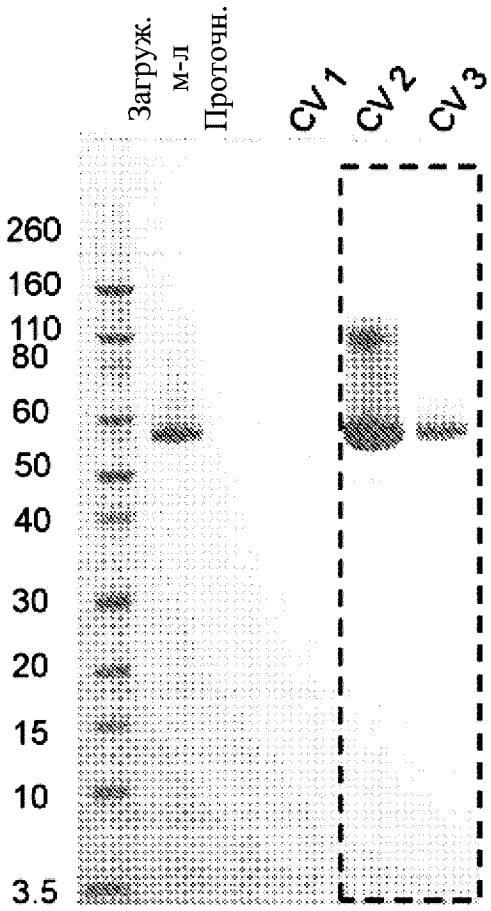


Фиг. 15

Фиг. 16А

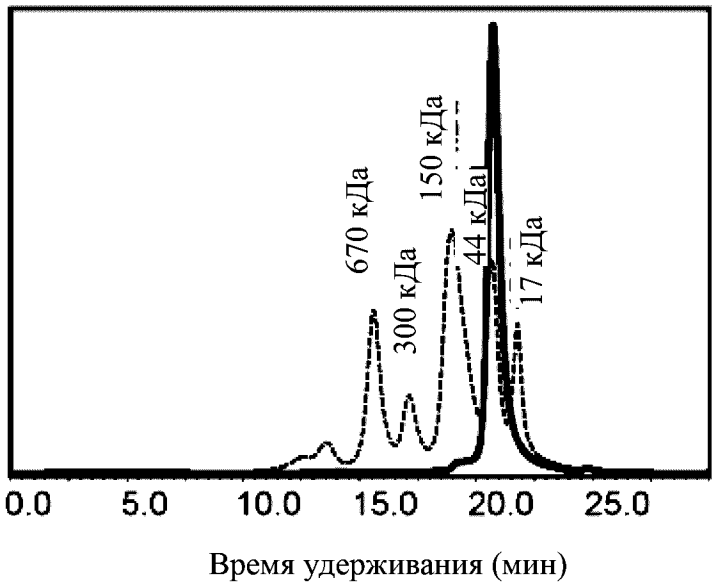


Фиг. 16В

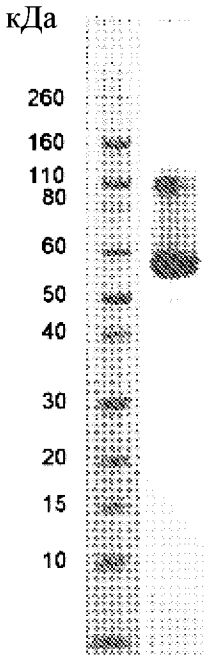


Фиг. 16

Фиг. 17A

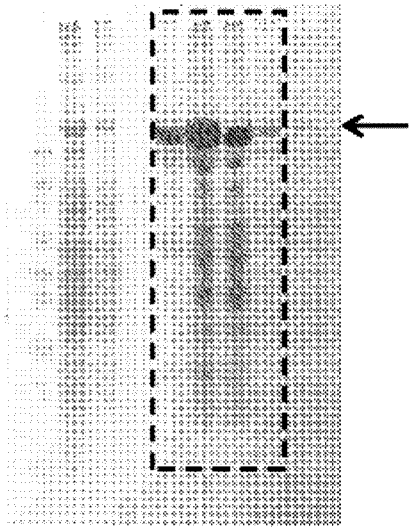


Фиг. 17B

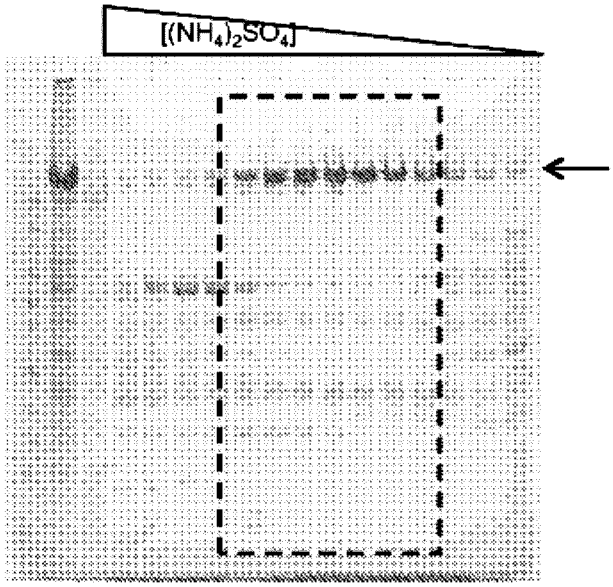


Фиг. 17

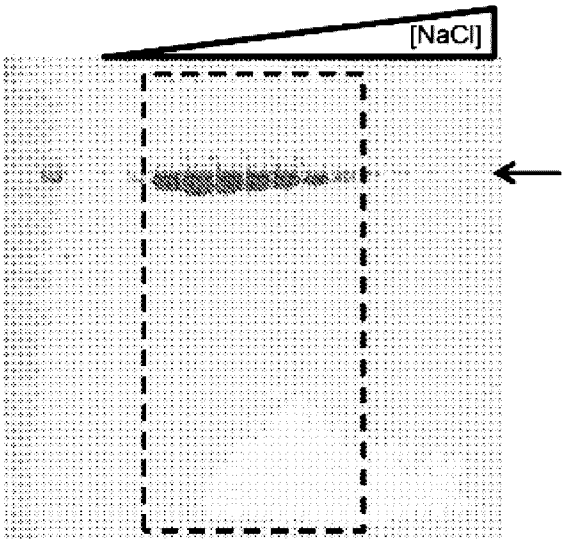
Фиг. 18A



Фиг. 18B

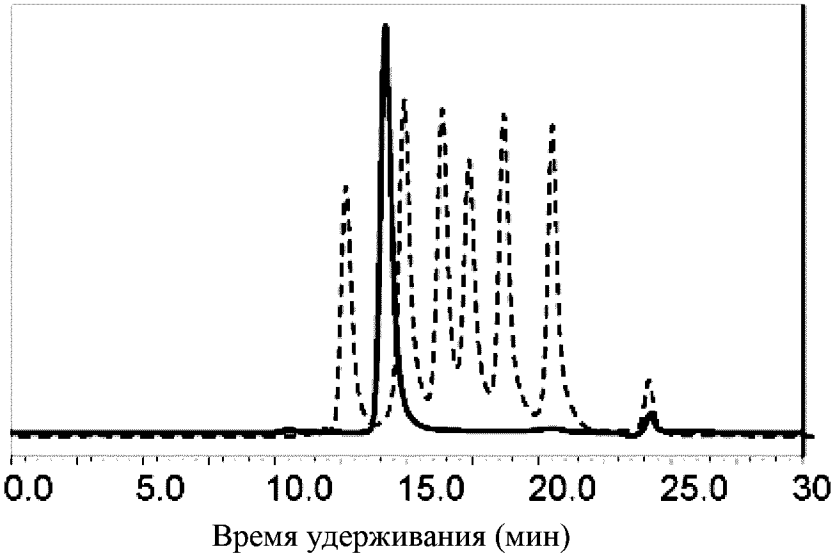


Фиг. 18C

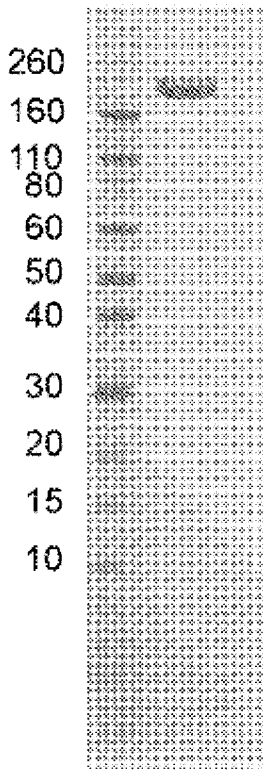


Фиг. 18

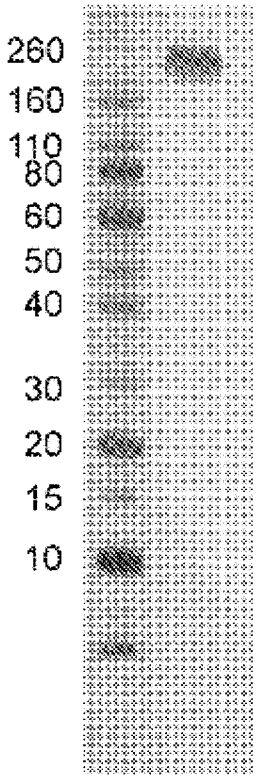
Фиг. 19A



Фиг. 19B

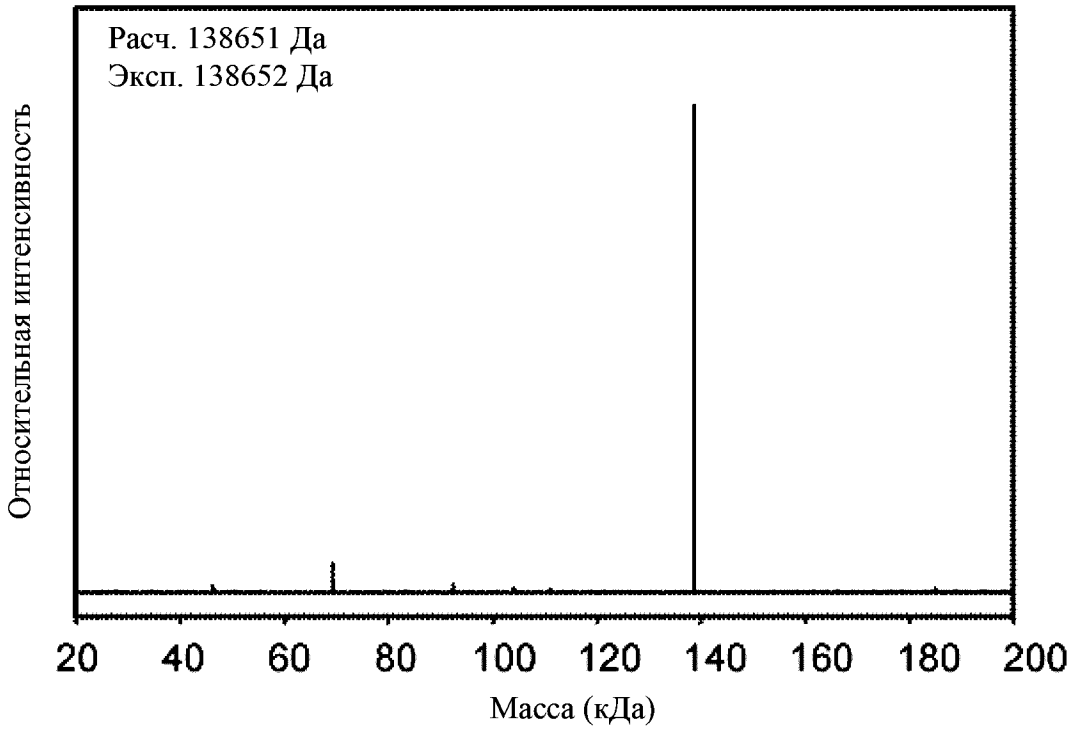


Фиг. 19C

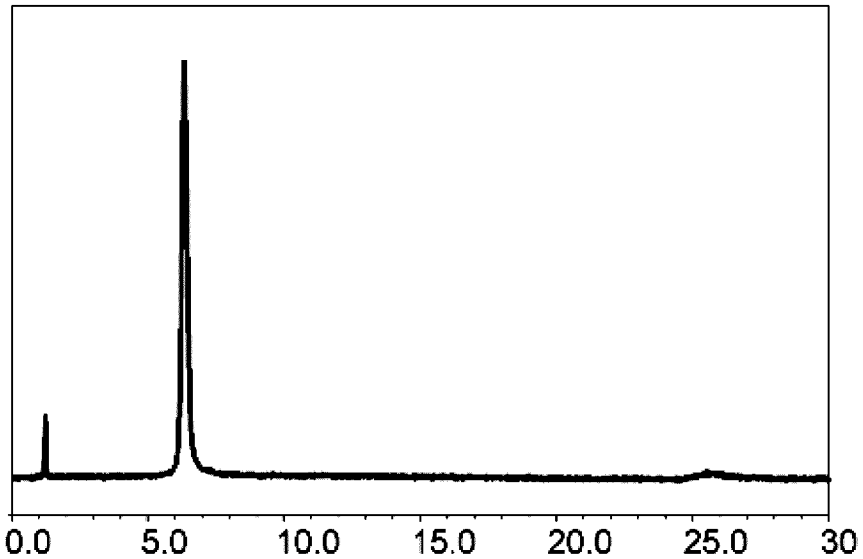


Фиг. 19

Фиг. 20A

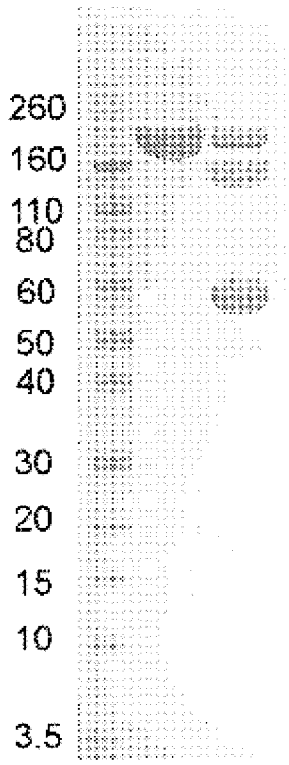


Фиг. 20B

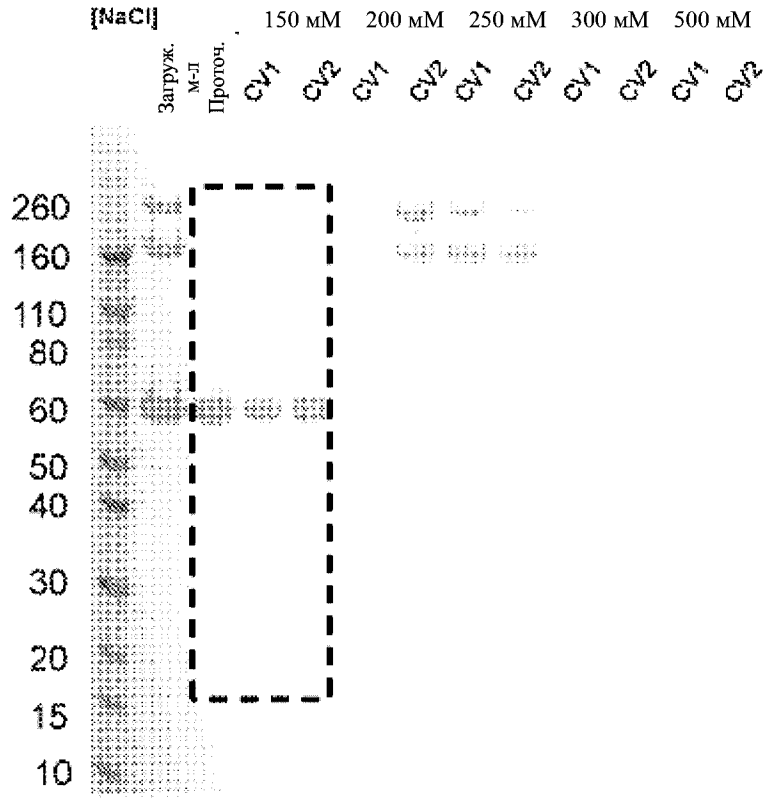


Фиг. 20

Фиг. 21A

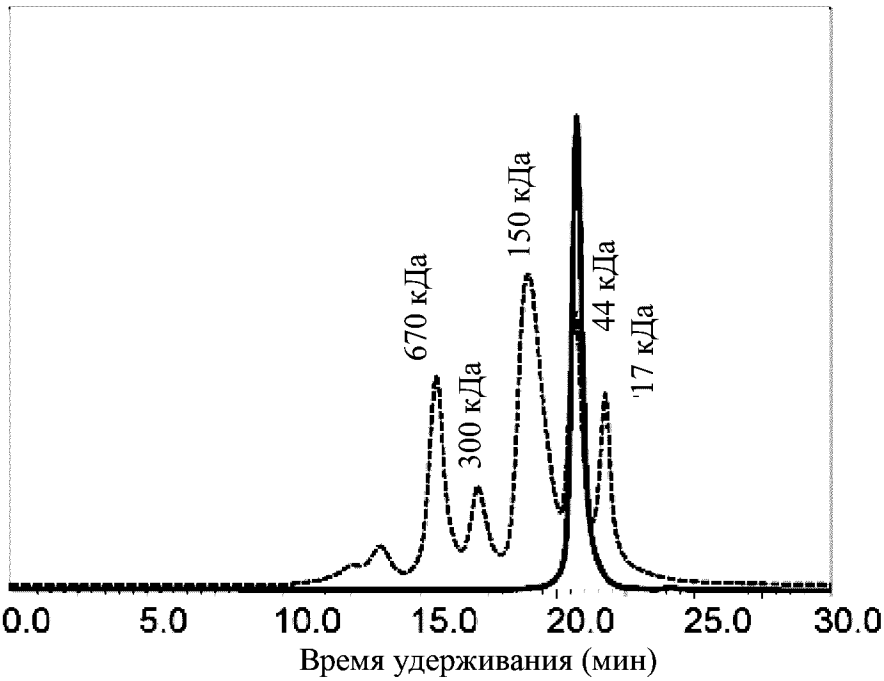


Фиг. 21B

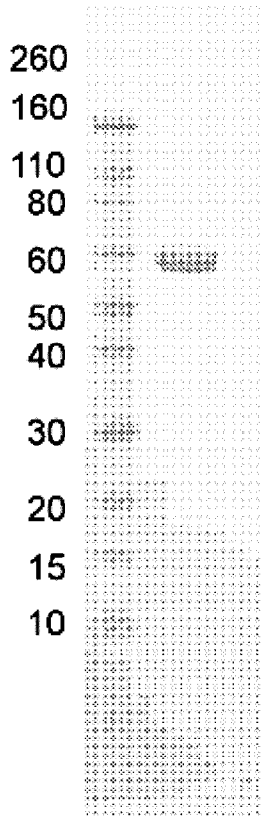


Фиг. 21

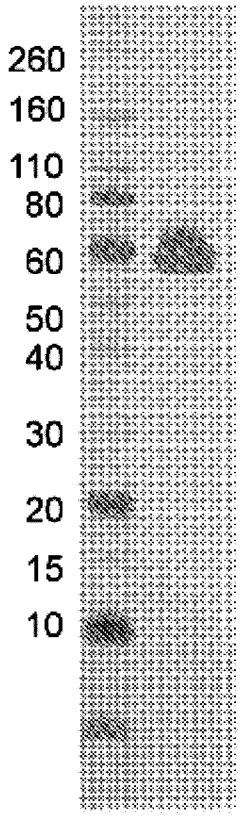
Фиг. 22A



Фиг. 22B

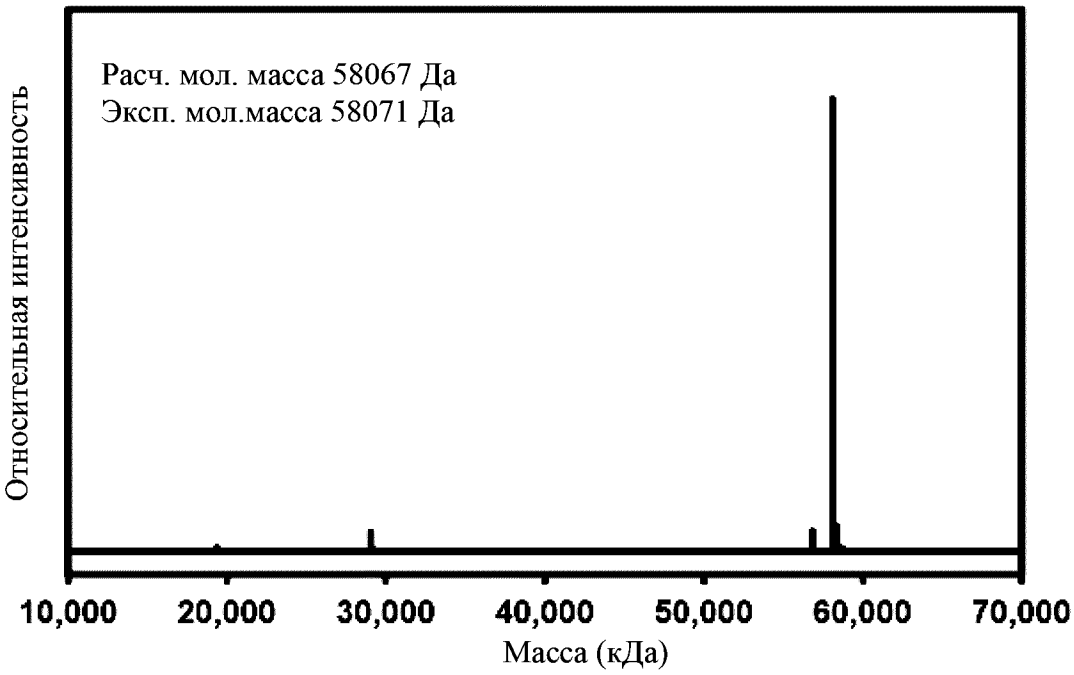


Фиг. 22C

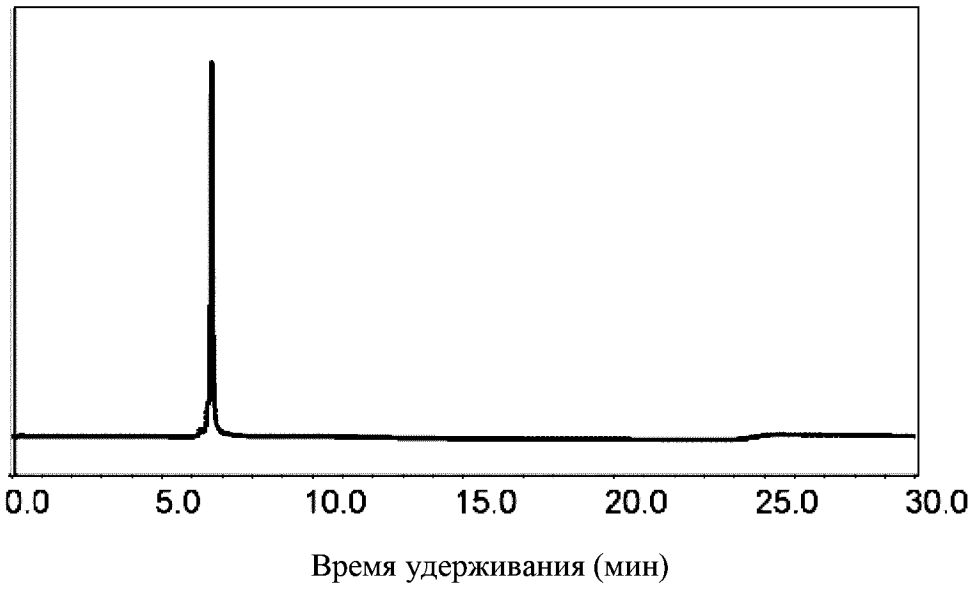


Фиг. 22

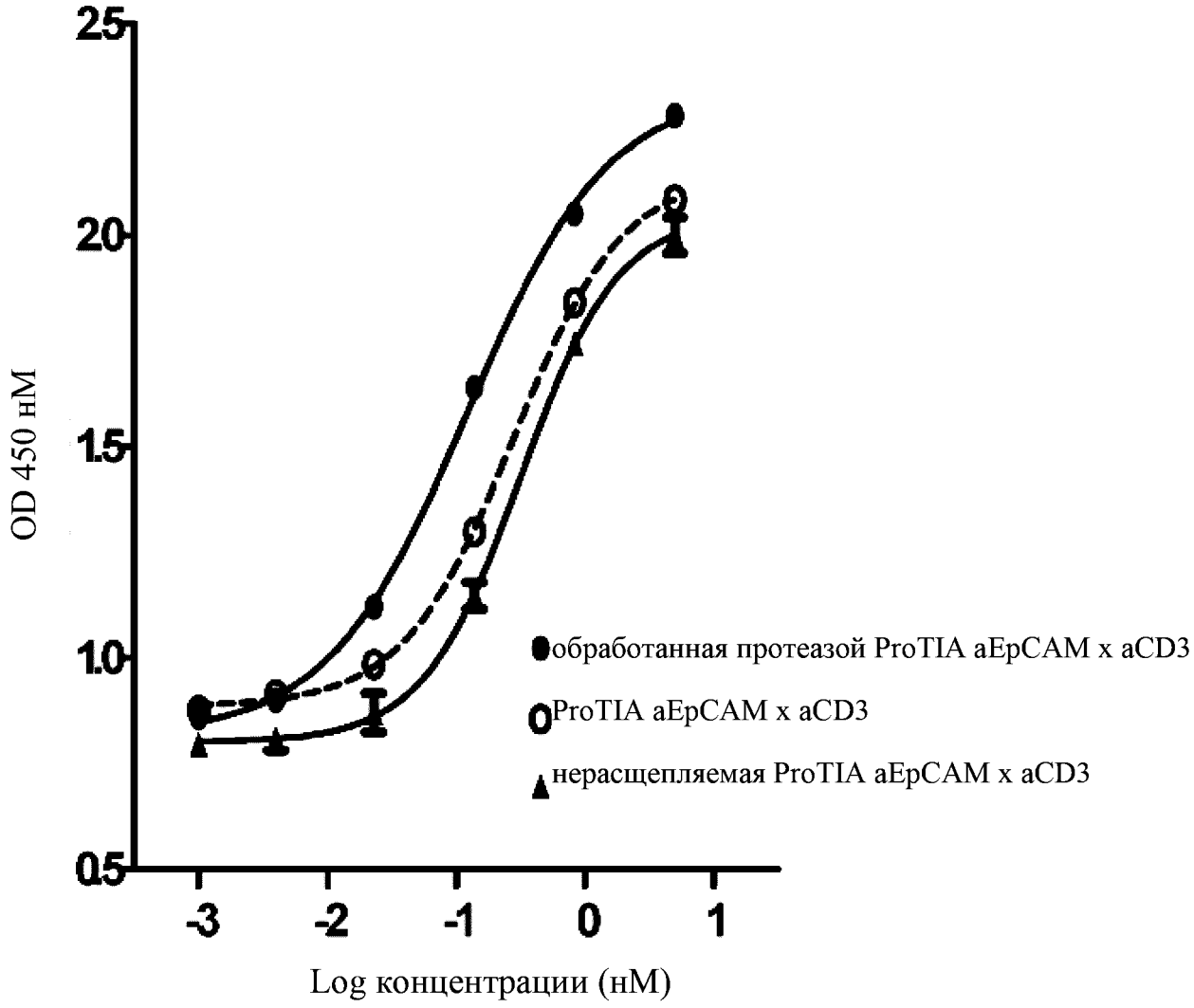
Фиг. 23A



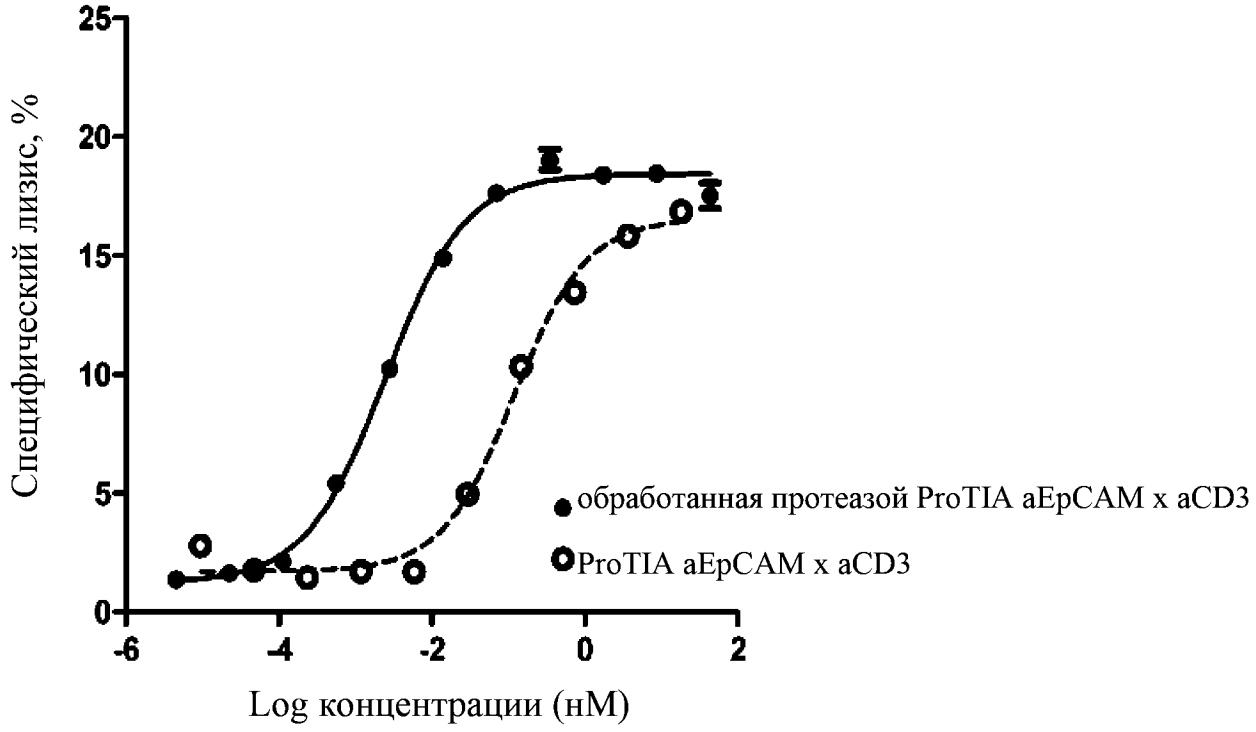
Фиг. 23B



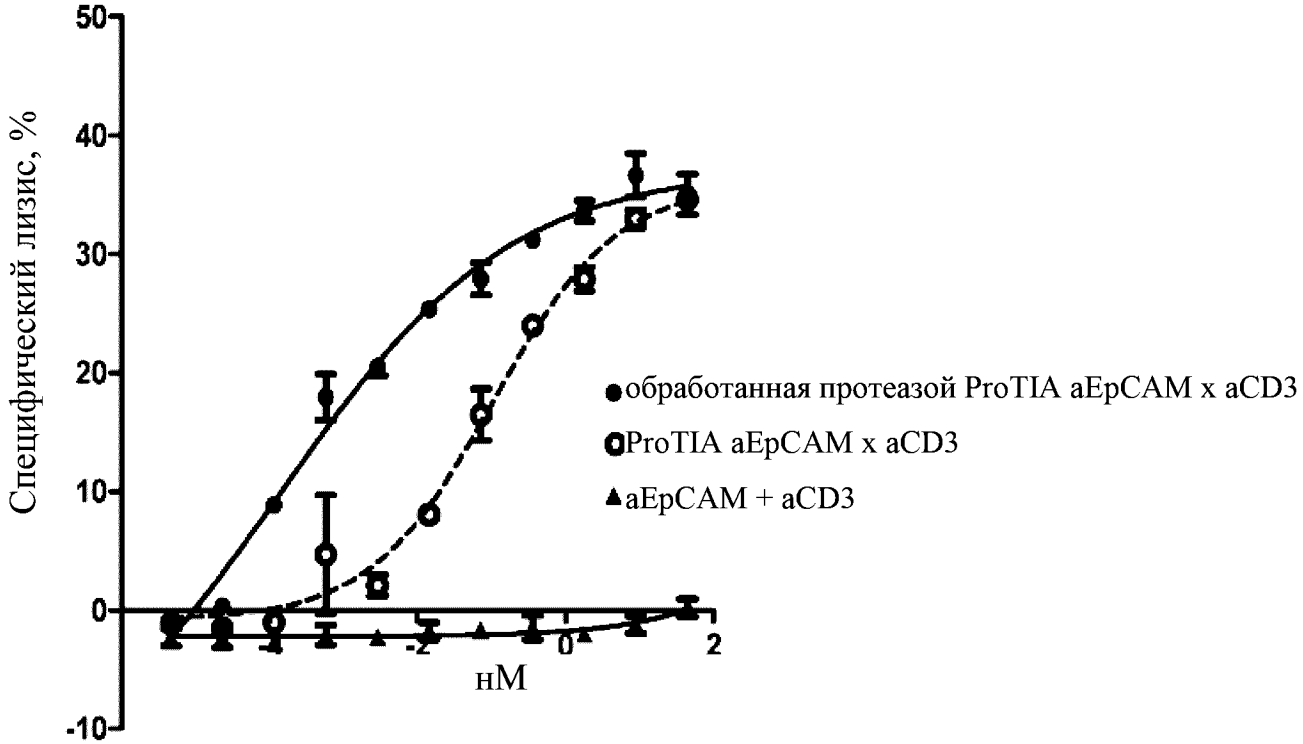
Фиг. 23


2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
OD 450 нМ
-3
-2
-1
0
1
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

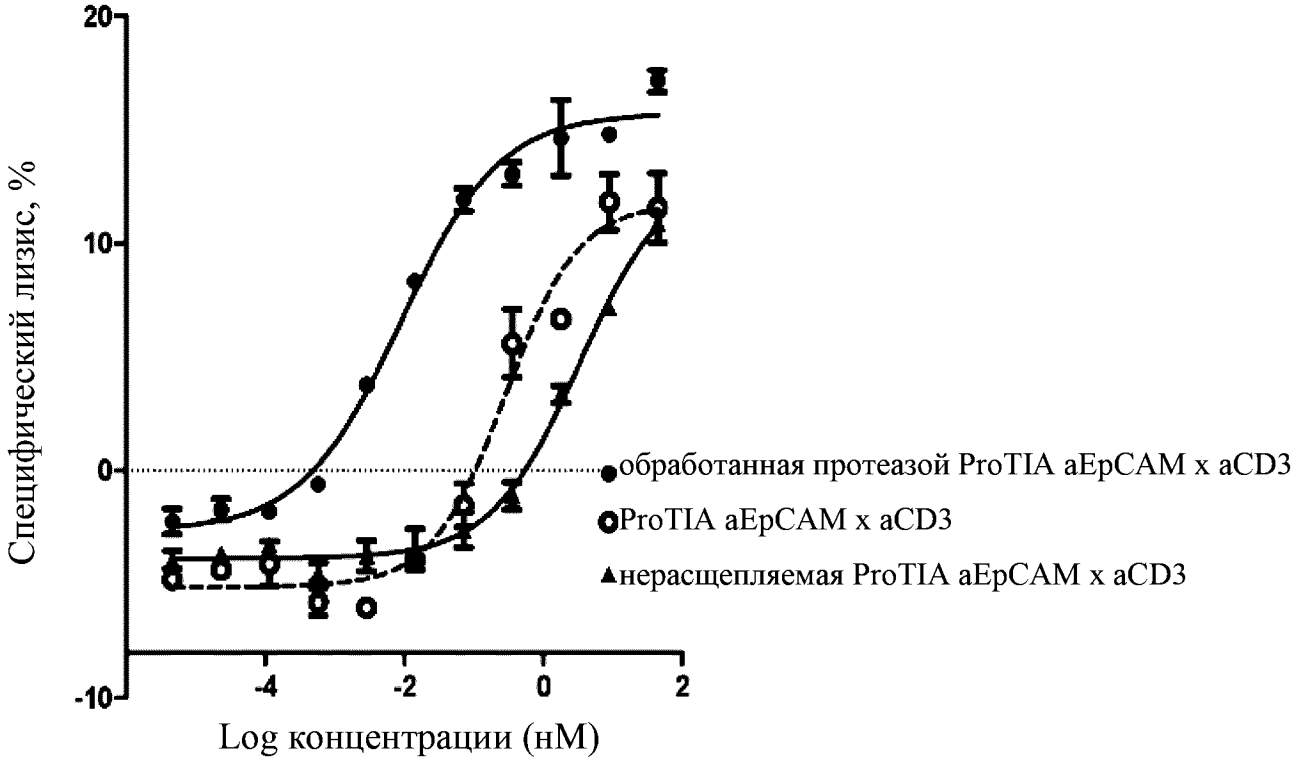
Фиг. 24


Специфический лизис, %
25
20
15
10
5
0
-6
-4
-2
0
2
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3

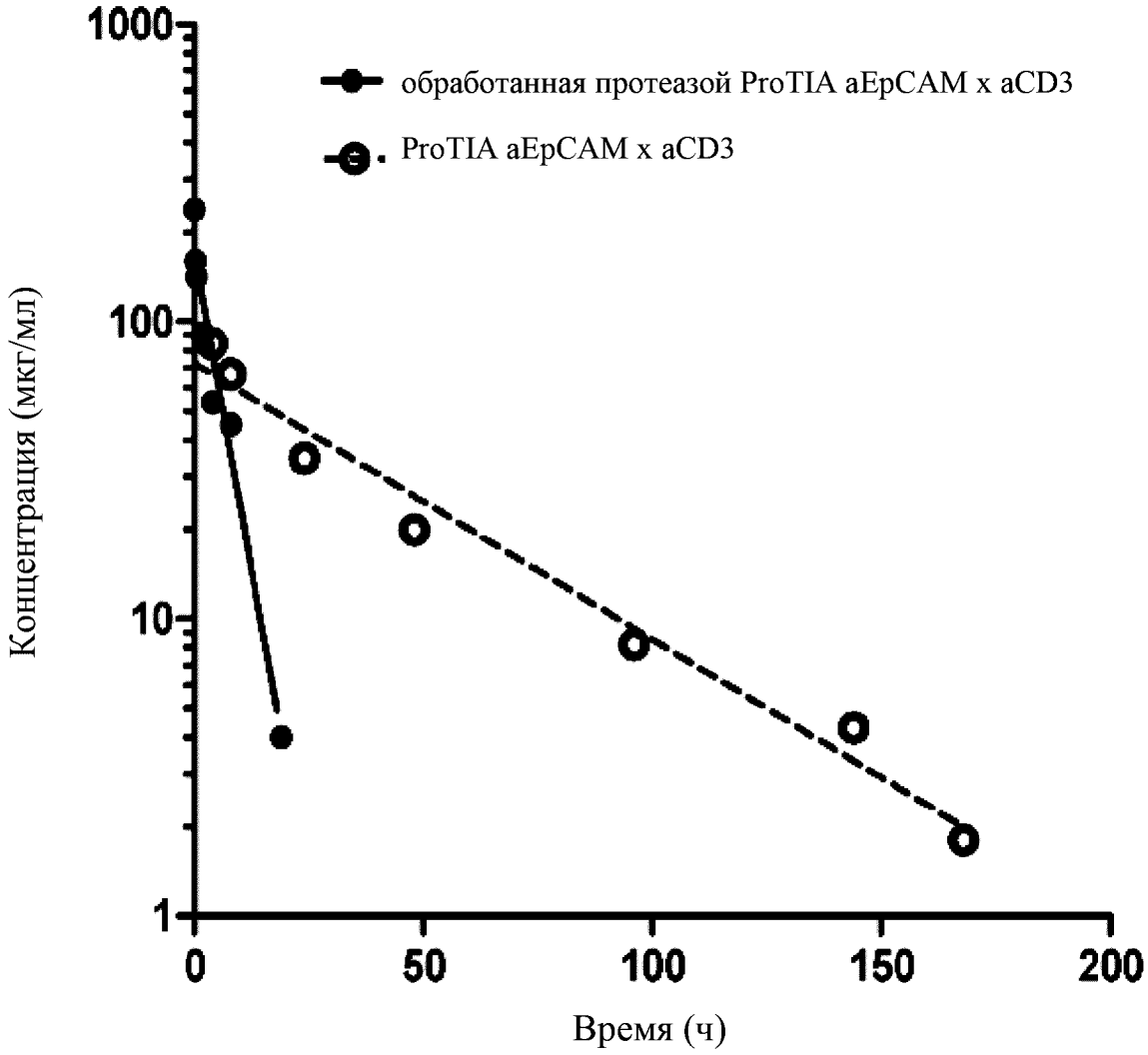
Фиг. 25


Специфический лизис, %
50
40
30
20
10
0
-10
-4
-2
0
2
нМ
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
aEpCAM + aCD3

Фиг. 26

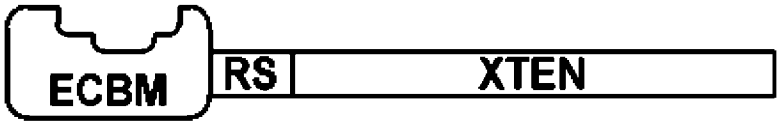

20
10
0
-10
Специфический лизис, %
-4
-2
0
2
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 27

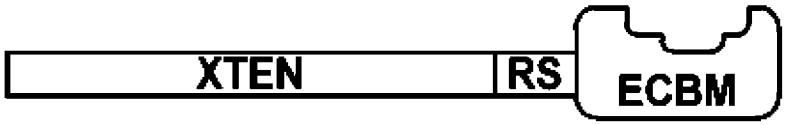

1000
100
10
1
0
50
100
150
200
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
Концентрация (мкг/мл)
Время (ч)

Фиг. 28

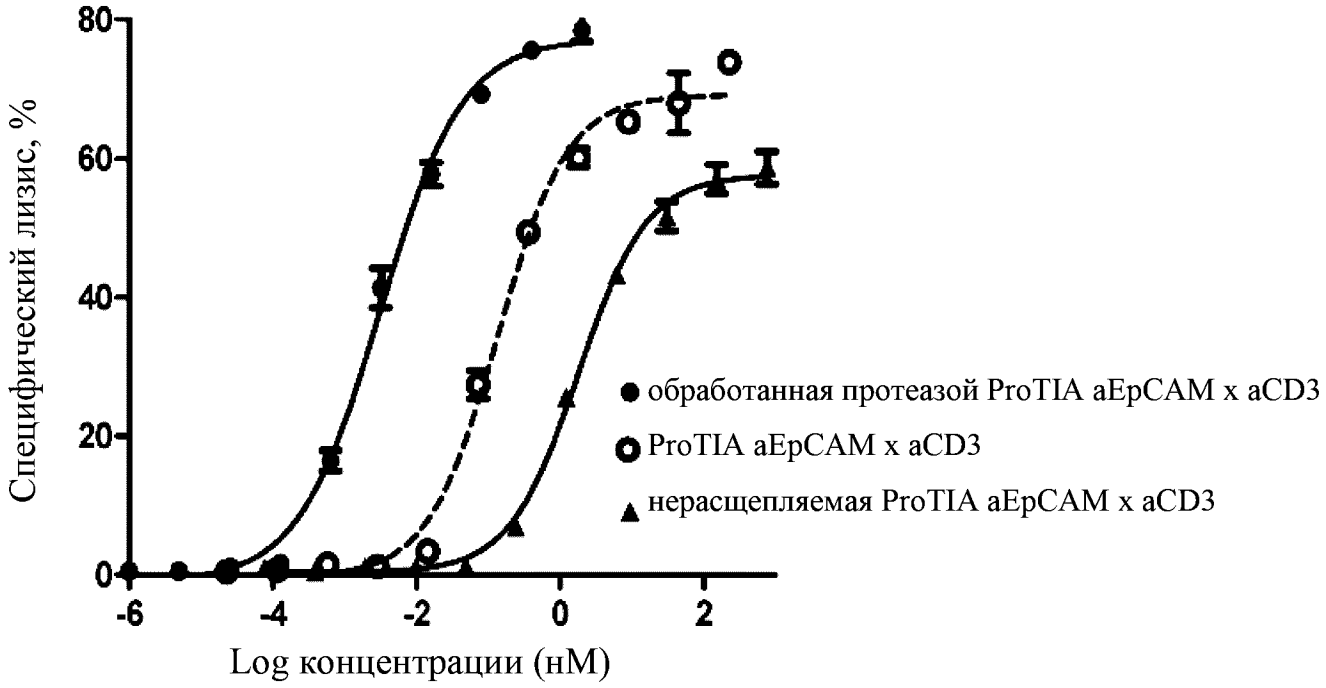
Фиг. 29A



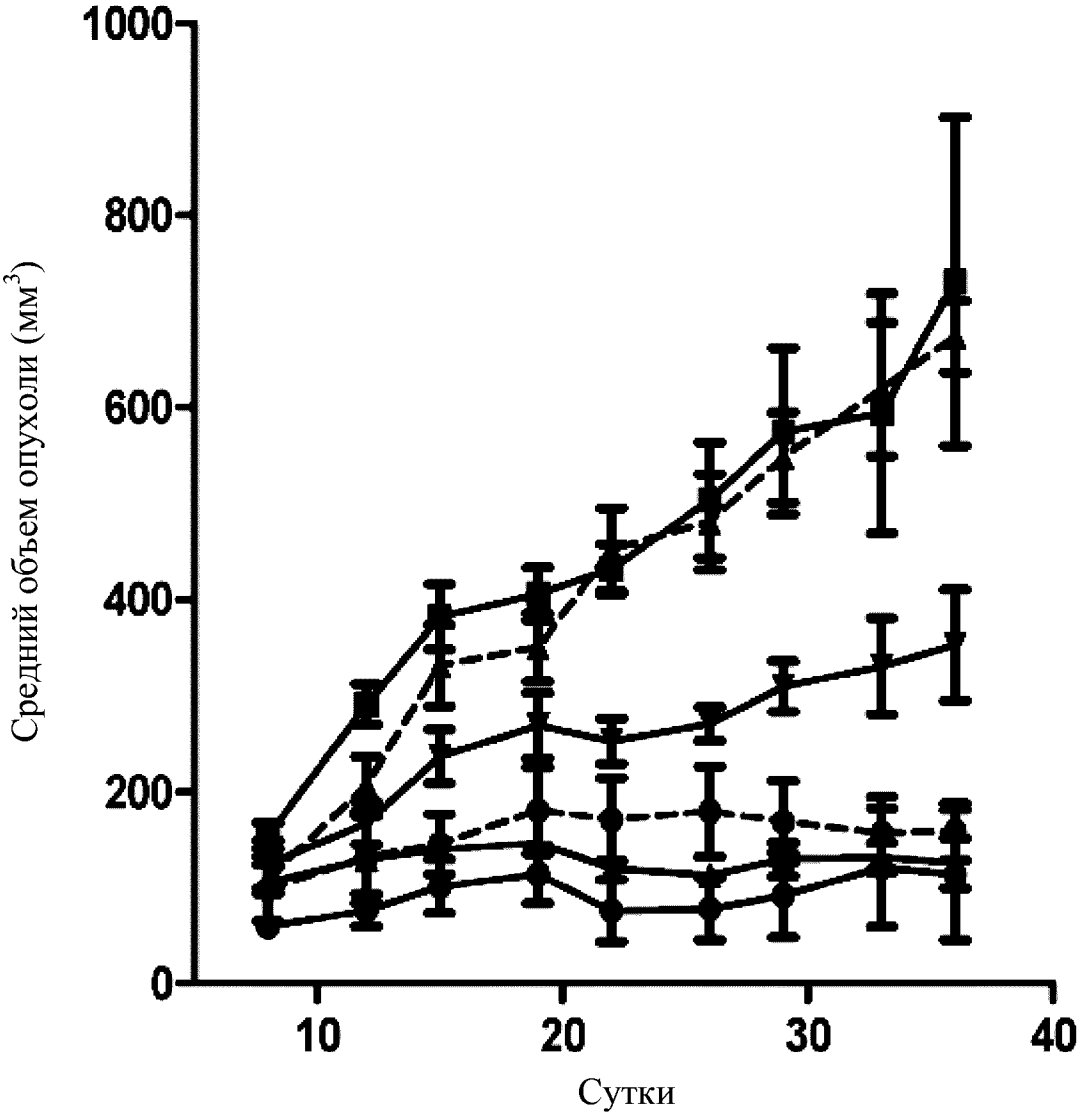
Фиг. 29B



Фиг. 29


Специфический лизис, %
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 30



Носитель

обработанная протеазой, 0,04 мг/кг

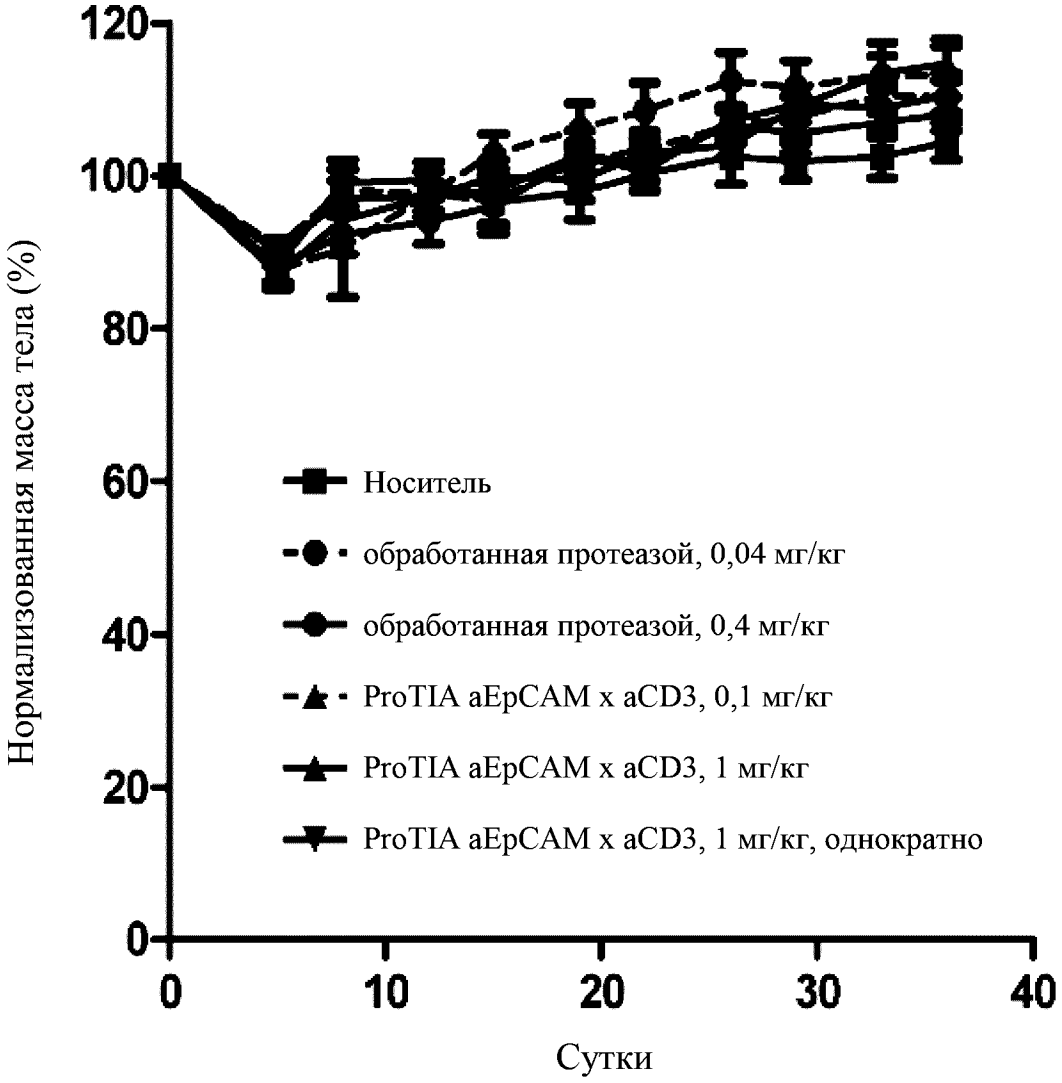
обработанная протеазой, 0,4 мг/кг

ProTIA aEpCAM x aCD3, 0,1 мг/кг

ProTIA aEpCAM x aCD3, 1 мг/кг

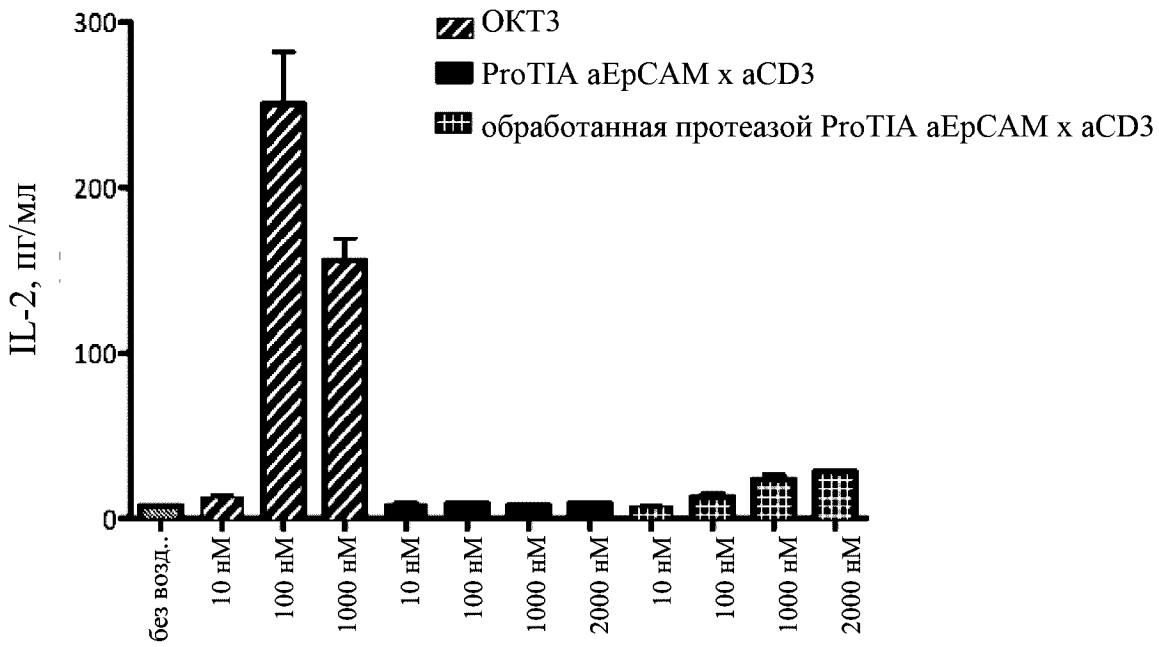
ProTIA aEpCAM x aCD3, 1 мг/кг, однократно

Фиг. 31

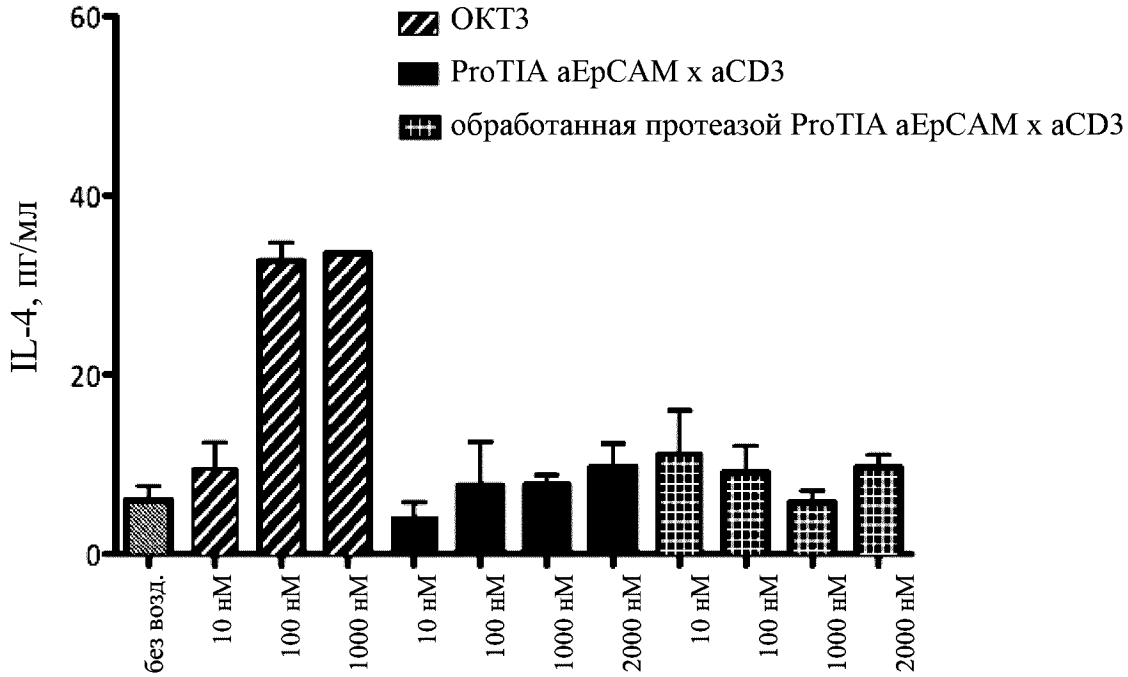

120
100
80
60
40
20
0
Нормализованная масса тела (%)
Носитель
обработанная протеазой, 0,04 мг/кг
обработанная протеазой, 0,4 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 0,1 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 1 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 1 мг/кг, однократно
0
10
20
30
40
Сутки

Фиг. 32

Фиг. 33A

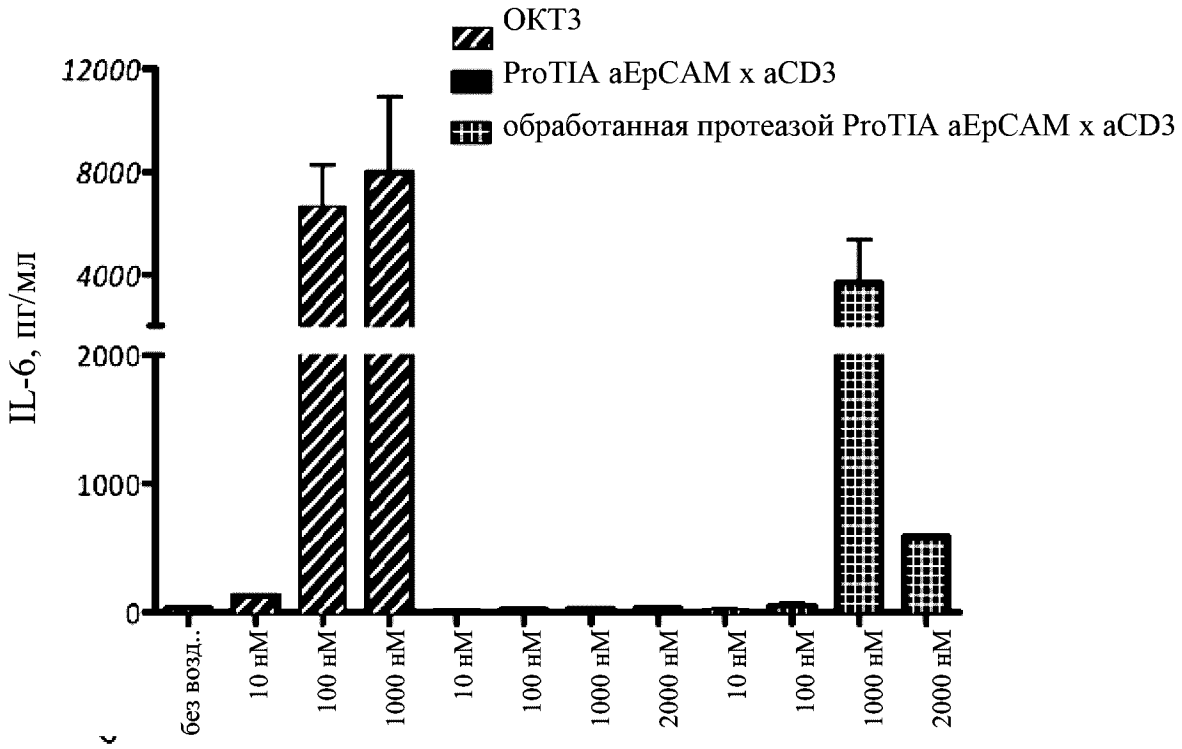


Фиг. 33B

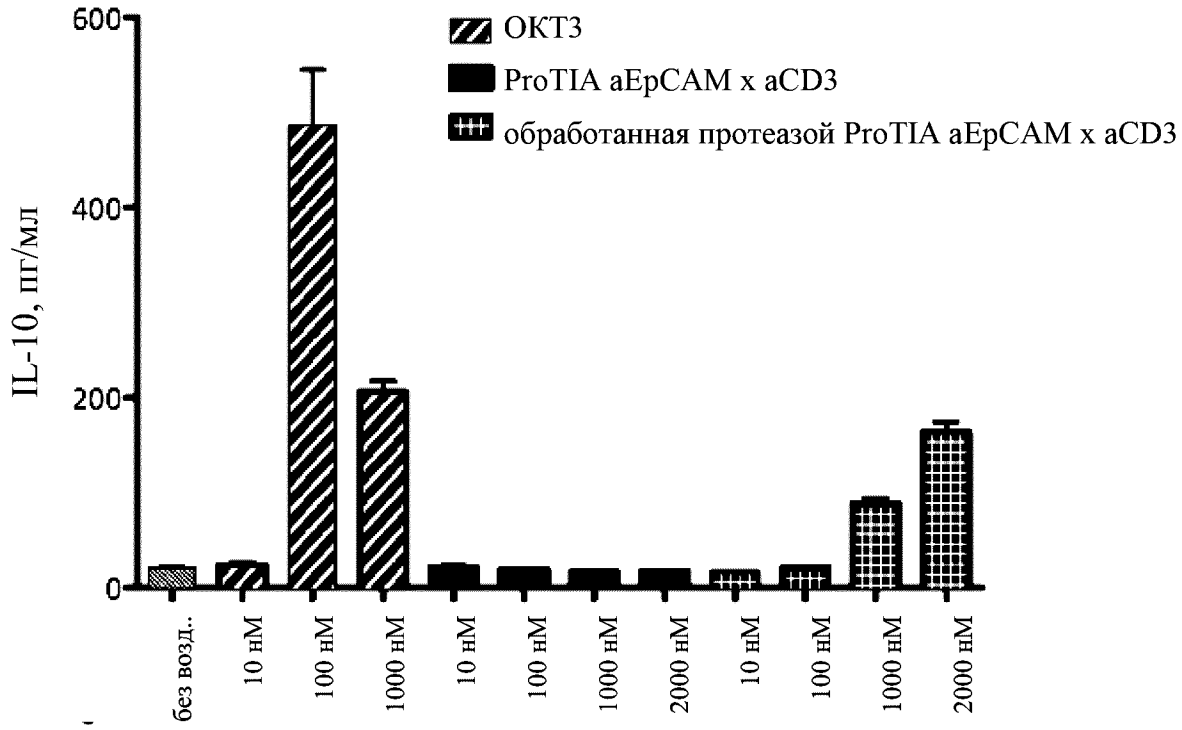


Фиг. 33

Фиг. 34A

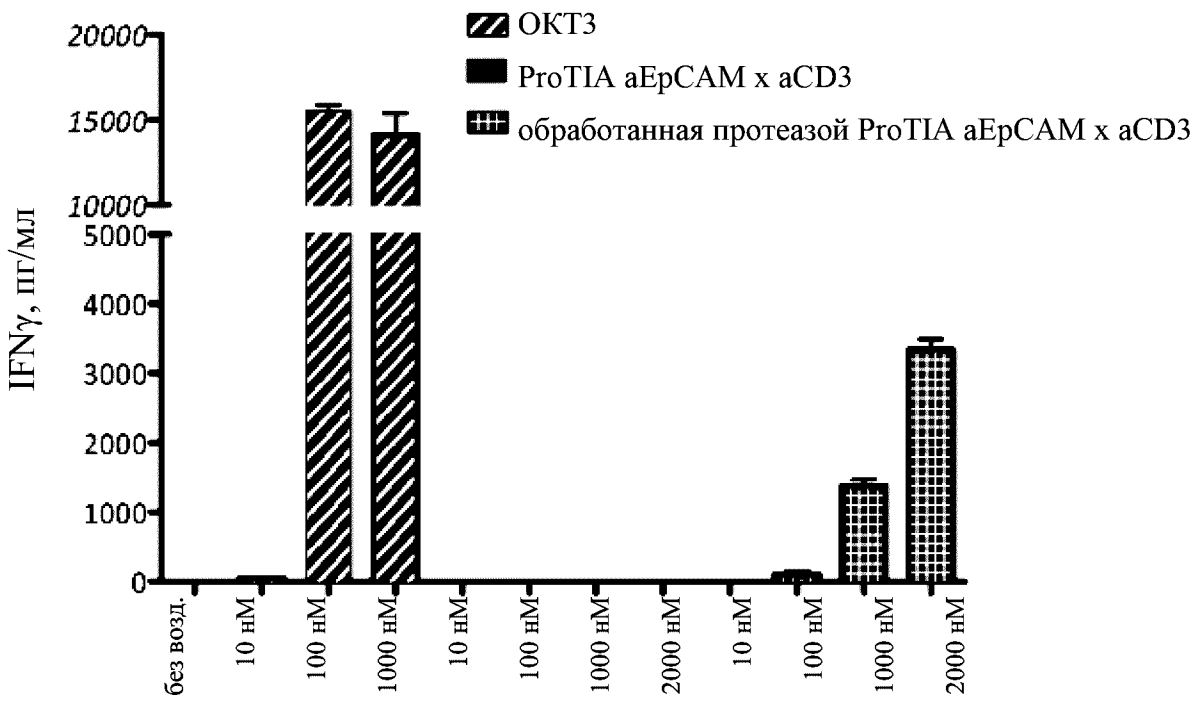


Фиг. 34B

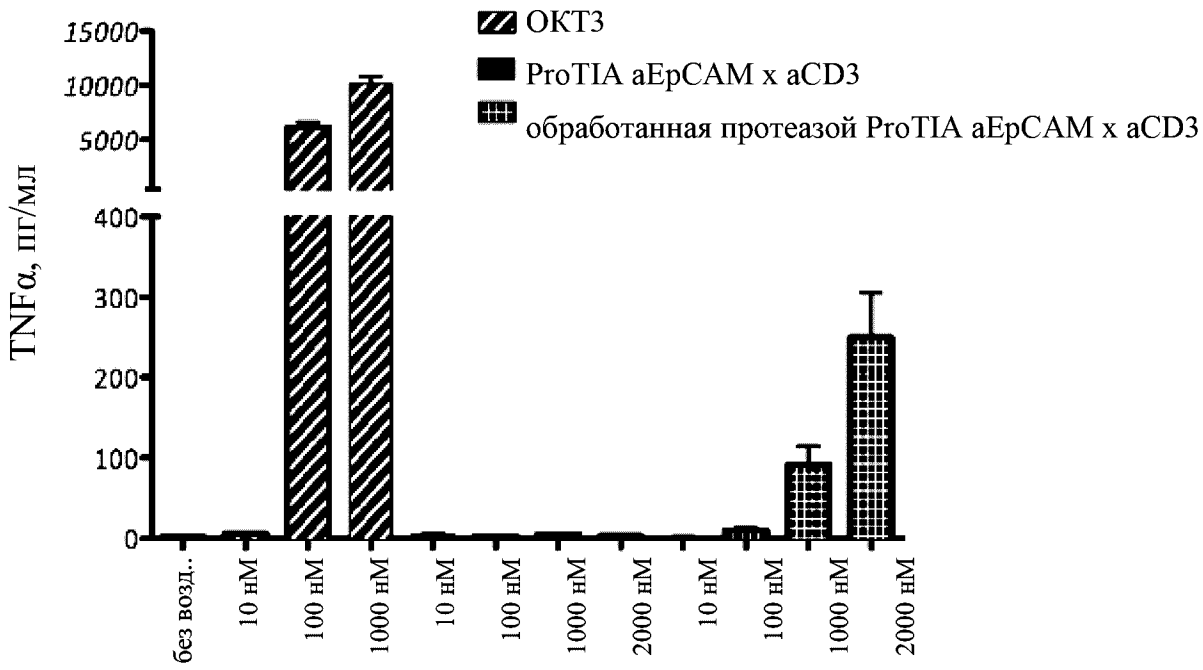


Фиг. 34

Фиг. 35A



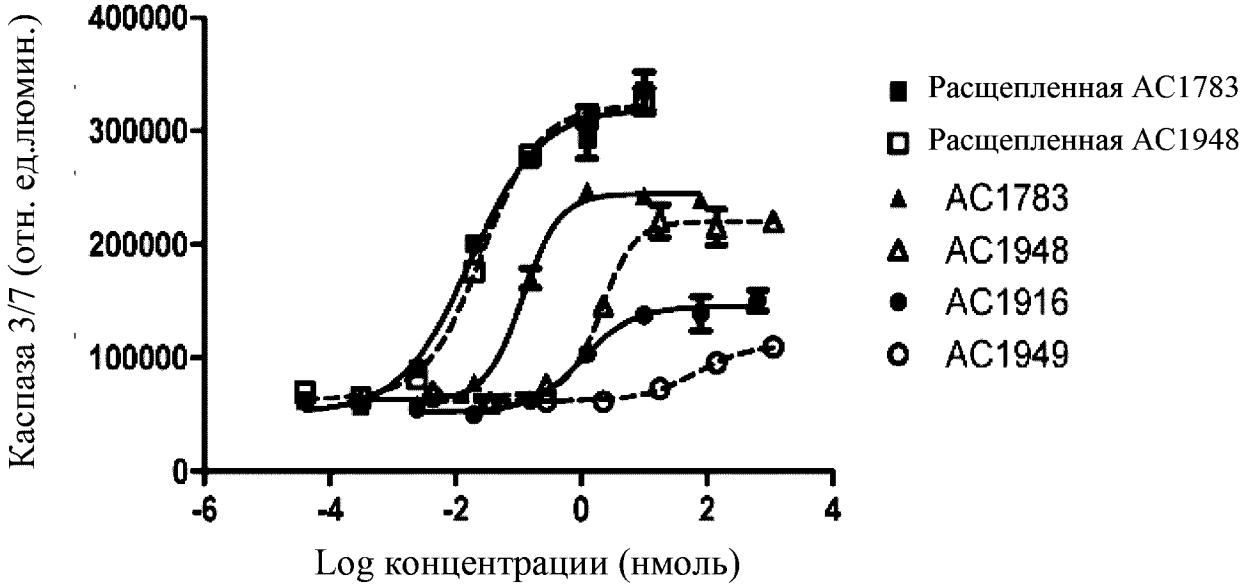
Фиг. 35B



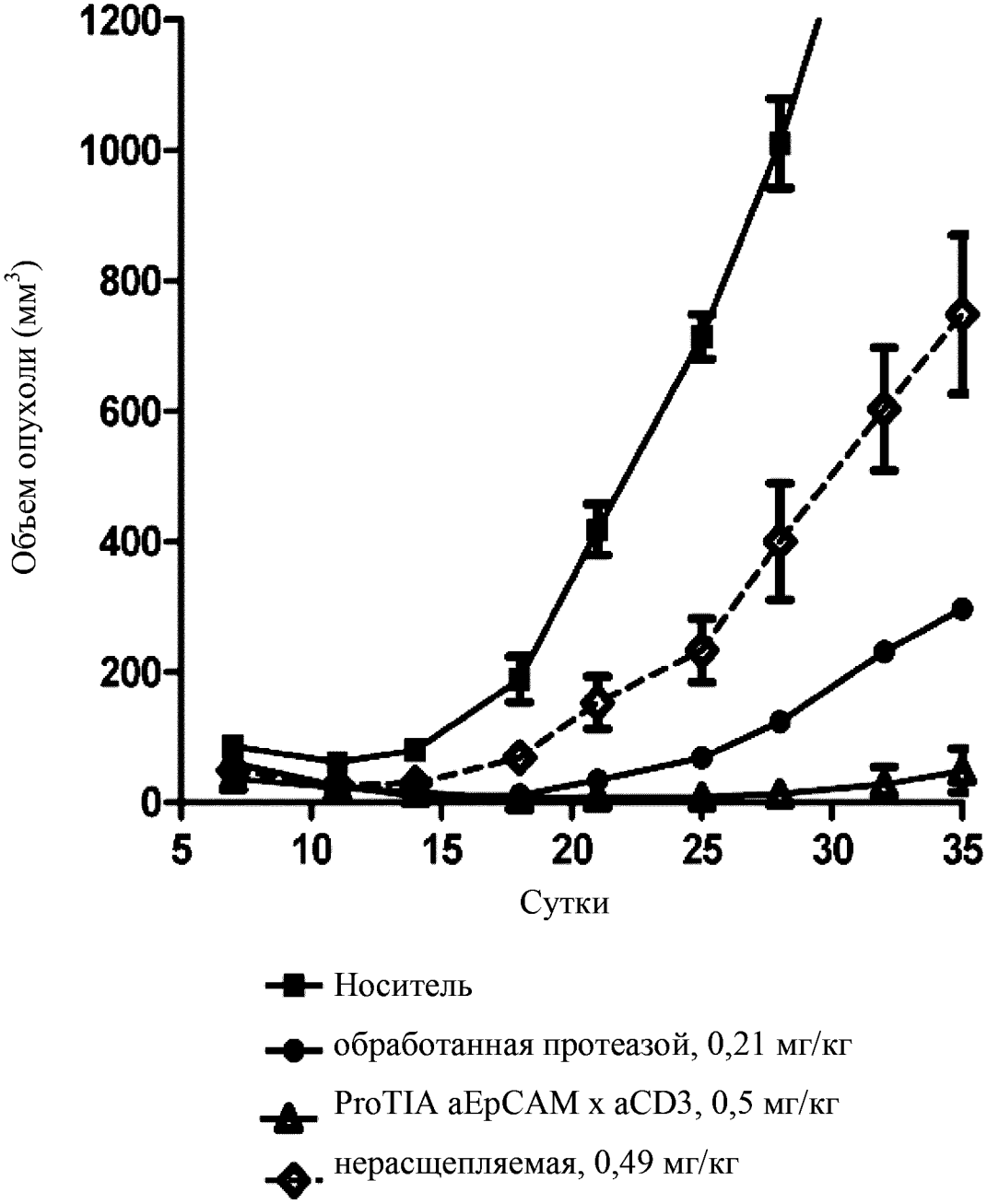
Фиг. 35


MMP-2,
MMP-7,
MMP-9,
MMP-14
Урокиназа
Матриптаза
Легумаин
RSR-1517: EAGRSANHEPLGLVAT

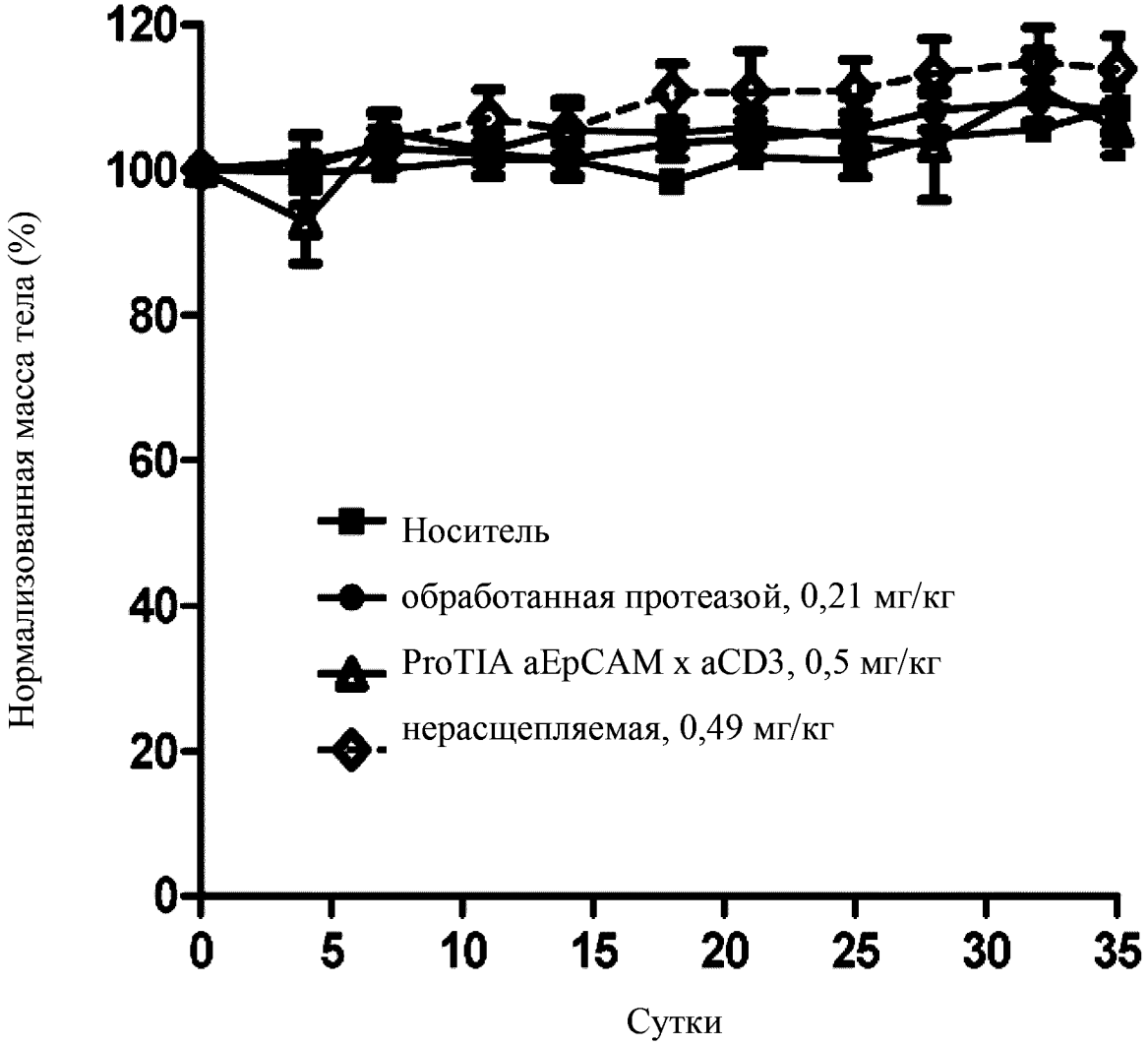
Фиг. 36


Каспаза 3/7 (отн. ед.люмин.)
400000
300000
200000
100000
0
-6
-4
-2
0
2
4
Log концентрации (нмоль)
Расщепленная AC1783
Расщепленная AC1948
AC1783
AC1948
AC1916
AC1949

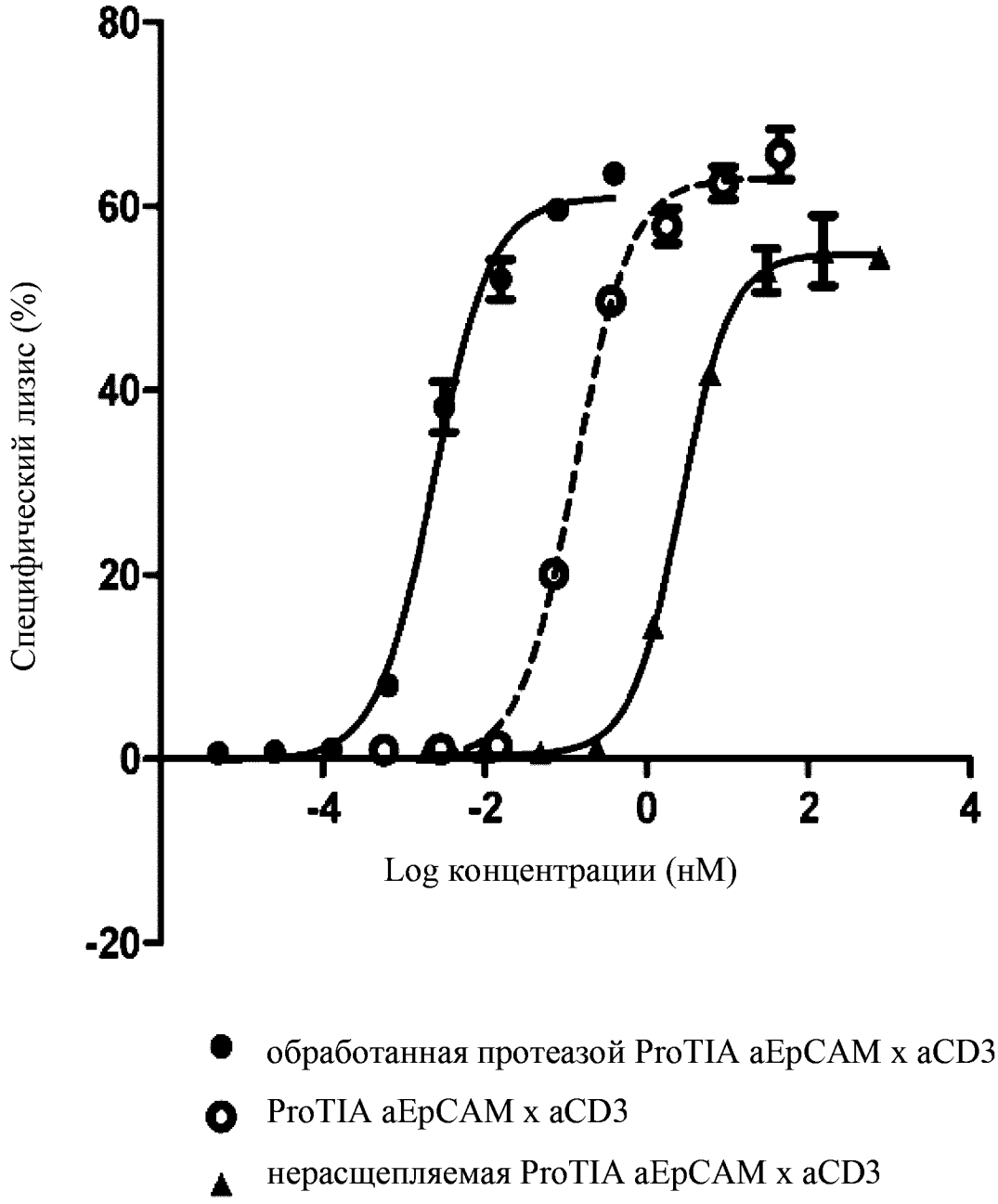
Фиг. 37


1200
1000
800
600
400
200
0
Объем опухоли (мм^3)
5
10
15
20
25
30
35
Сутки
Носитель
обработанная протеазой, 0,21 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 0,5 мг/кг
нерасщепляемая, 0,49 мг/кг

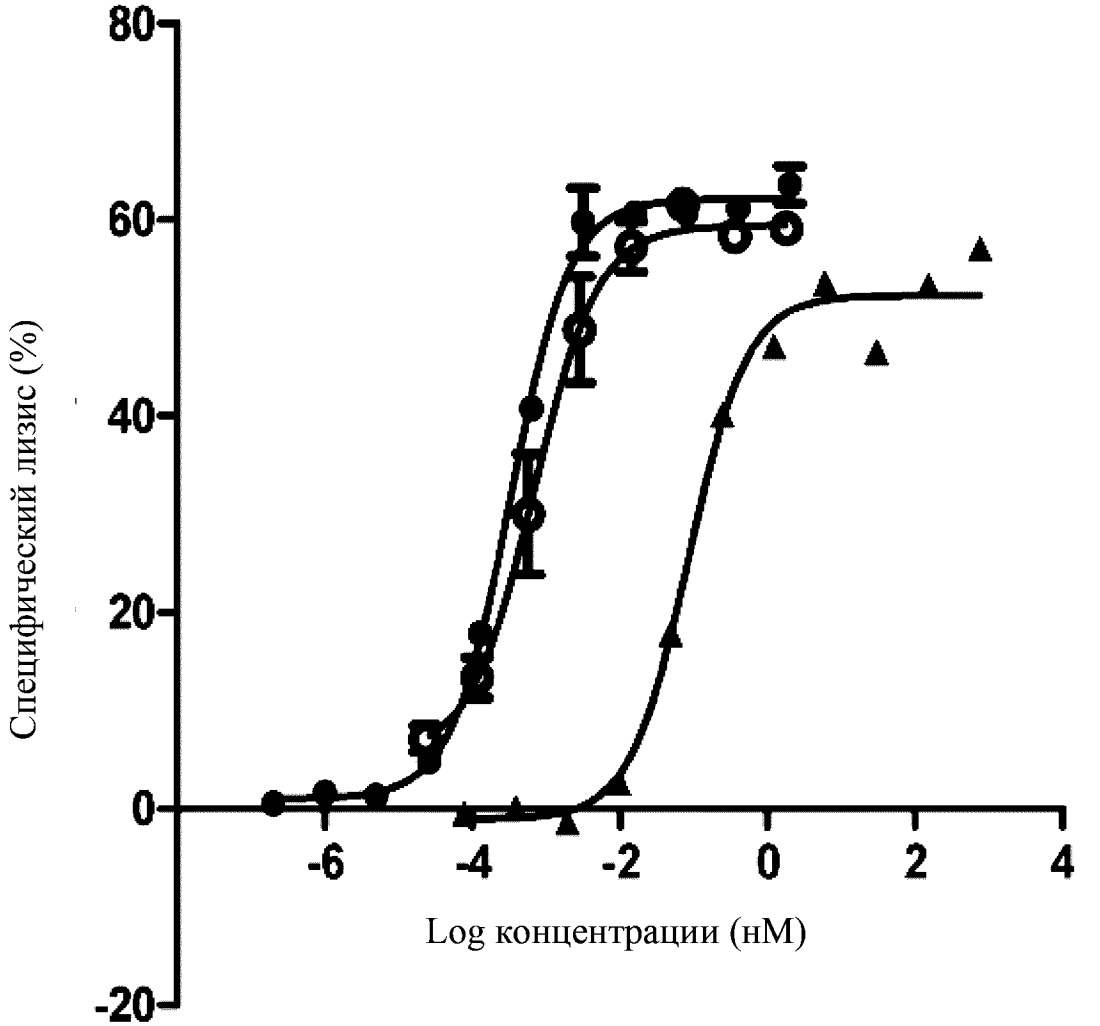
Фиг. 38


120
100
80
60
40
20
0
Нормализованная масса тела (%)
Носитель
обработанная протеазой, 0,21 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 0,5 мг/кг
нерасщепляемая, 0,49 мг/кг
0
5
10
15
20
25
30
35
Сутки

Фиг. 39


80
60
40
20
0
-20
Специфический лизис (%)
-4
-2
0
2
4
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 40



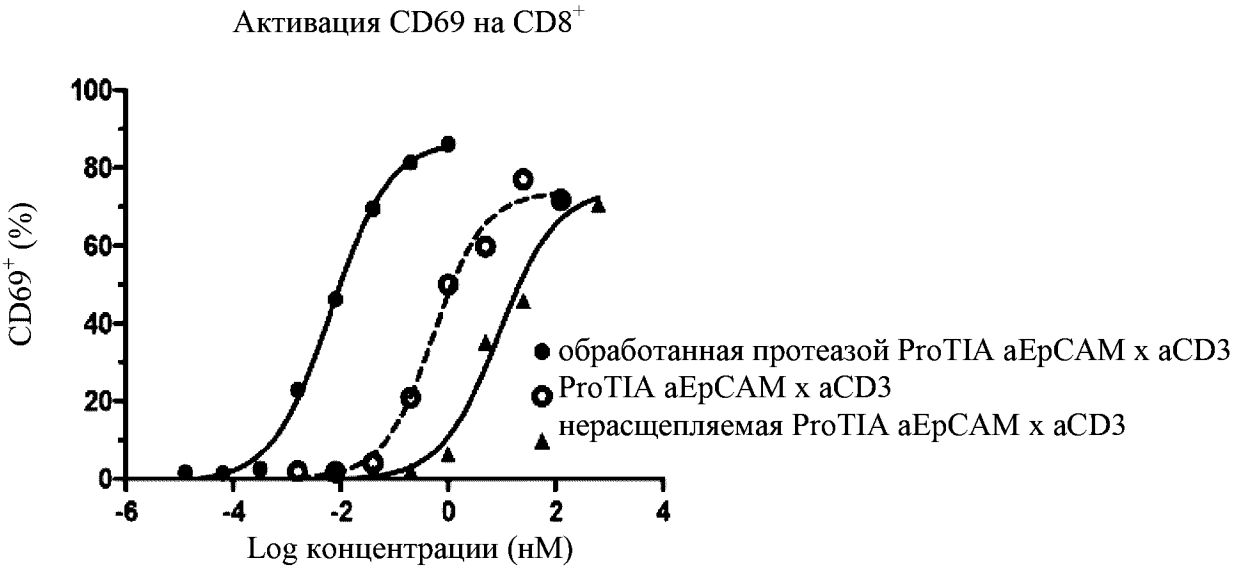
● обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3

○ ProTIA aEpCAM x aCD3

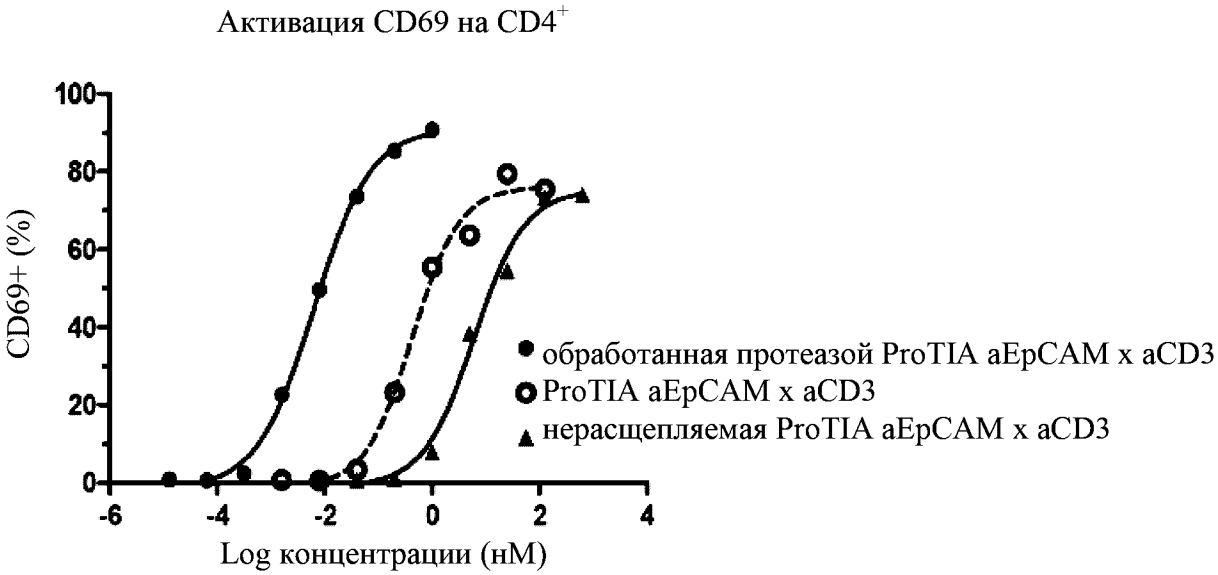
▲ нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 41

Фиг. 42A

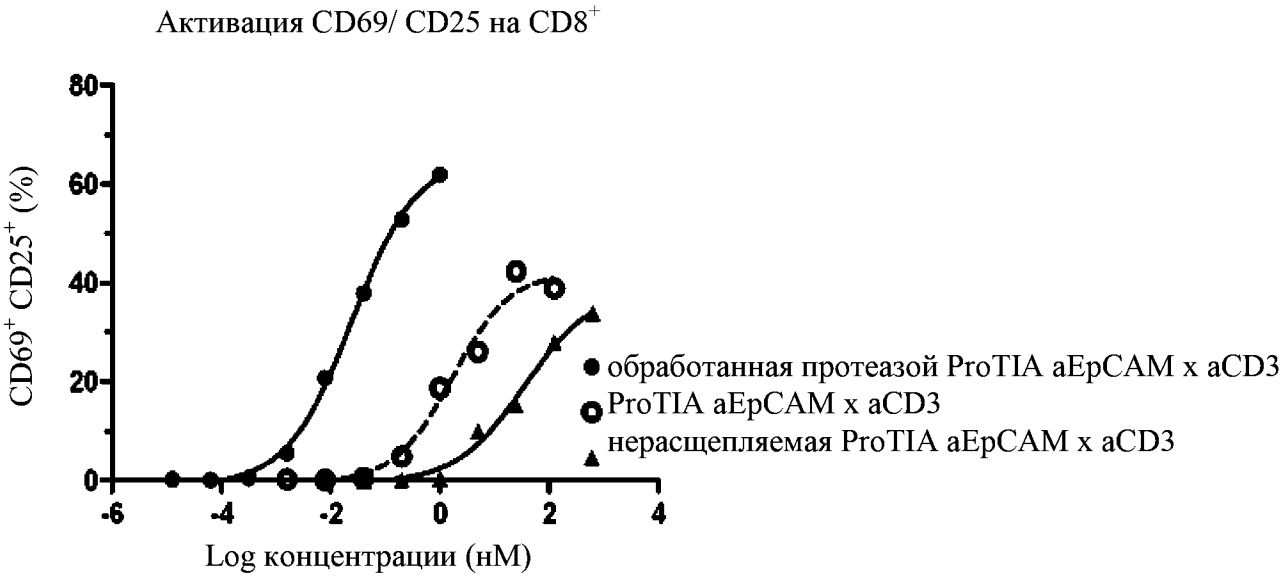


Фиг. 42B

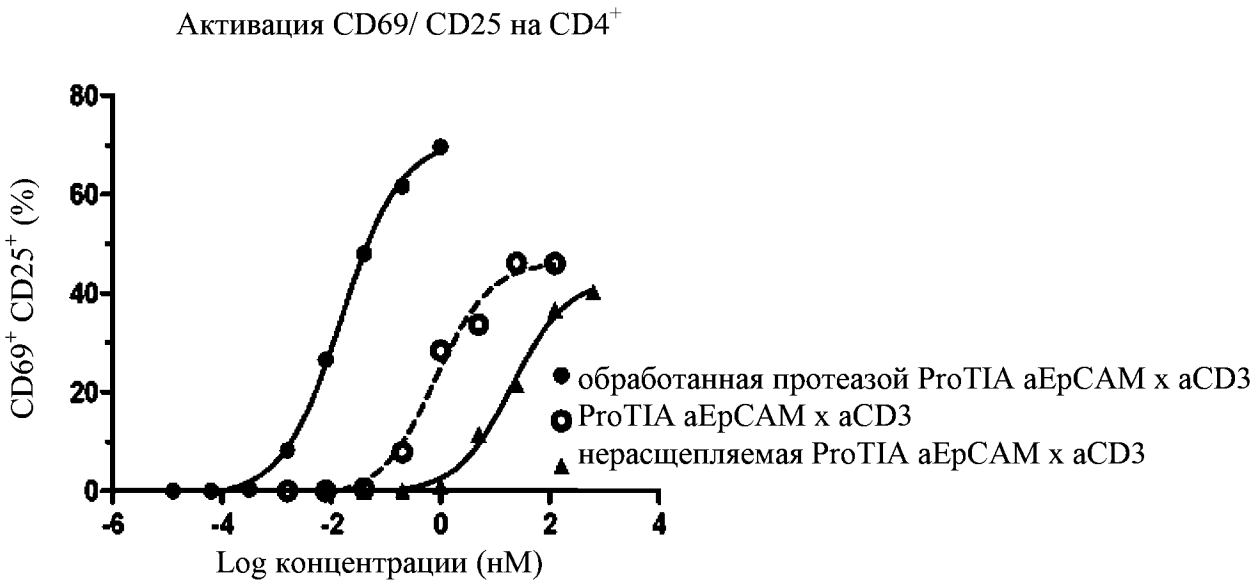


Фиг. 42

Фиг. 43A

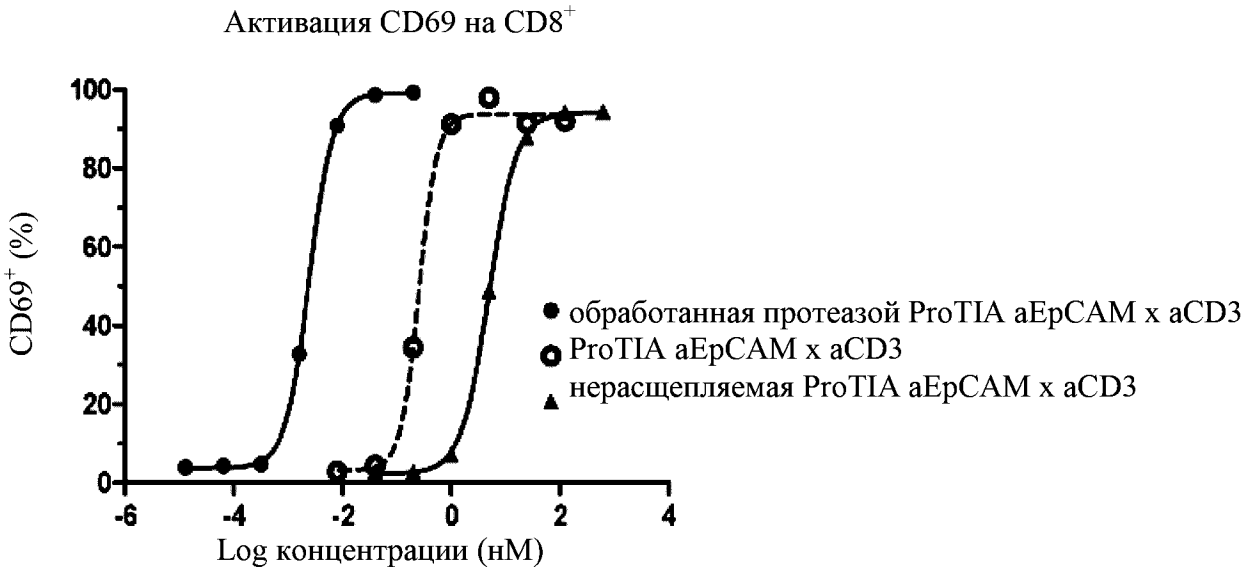


Фиг. 43B

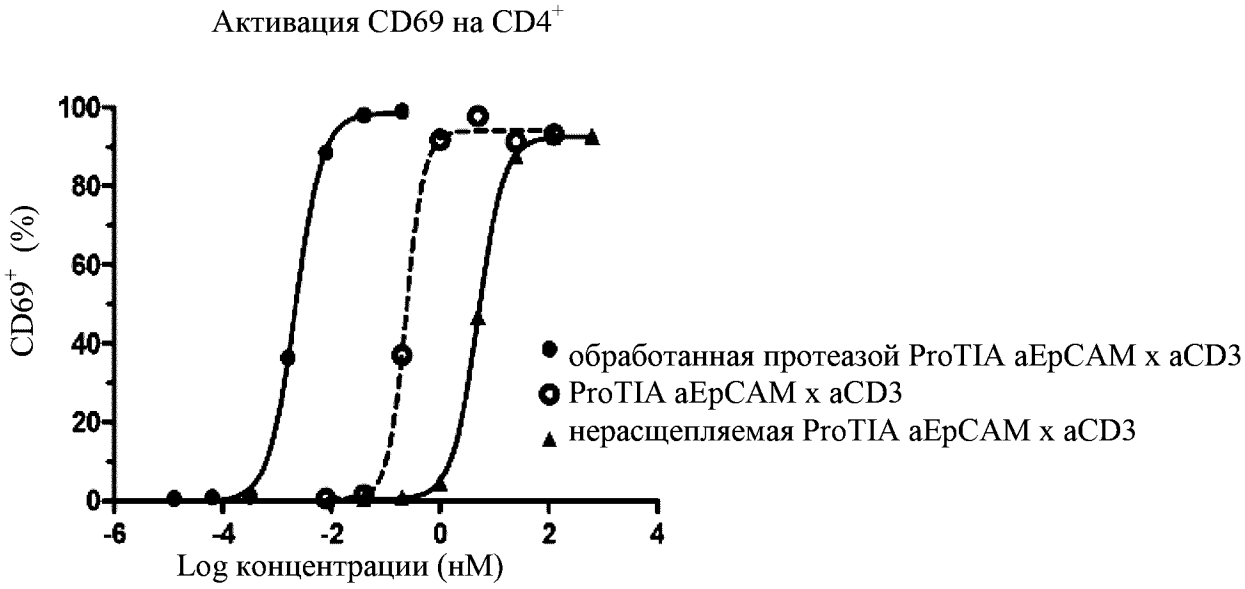


Фиг. 43

Фиг. 44A

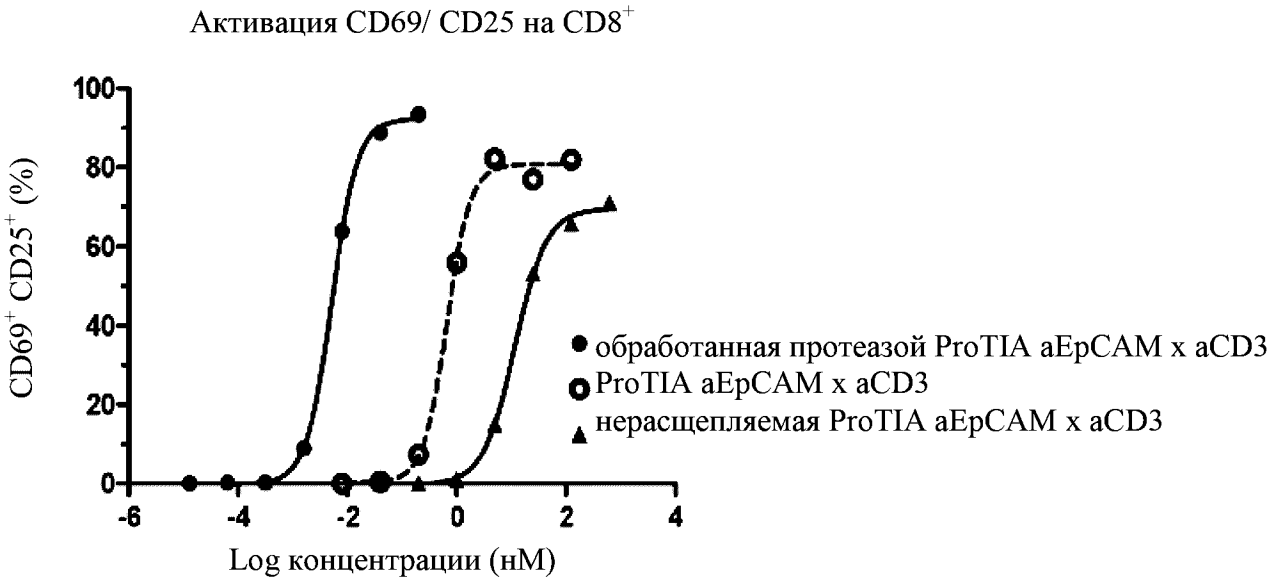


Фиг. 44B

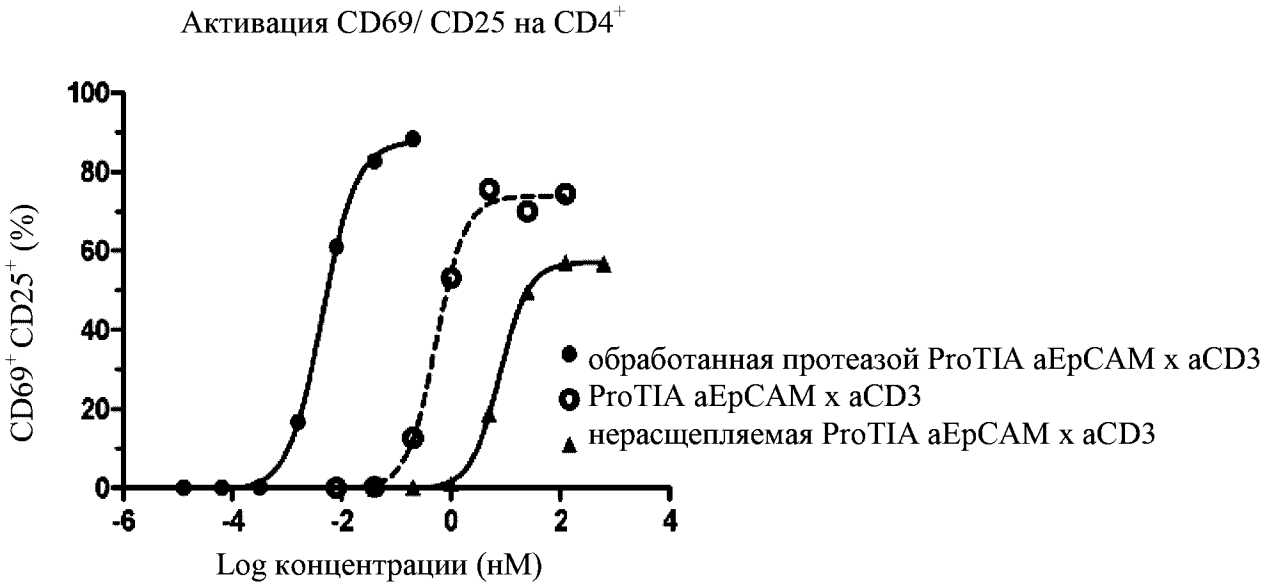


Фиг. 44

Фиг. 45A

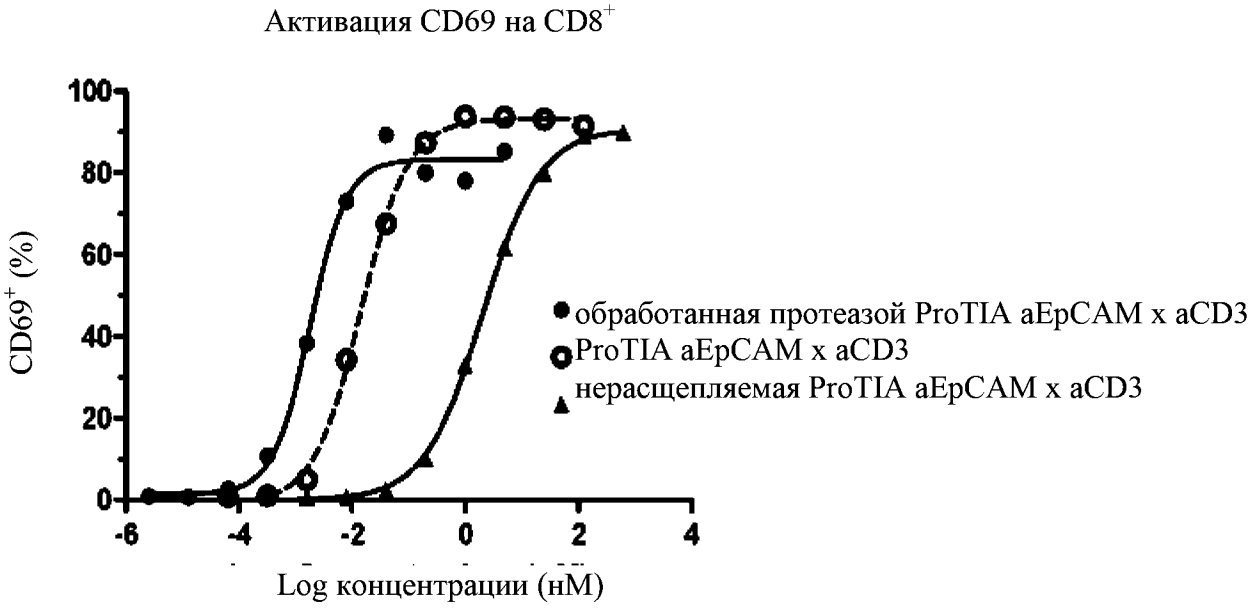


Фиг. 45B

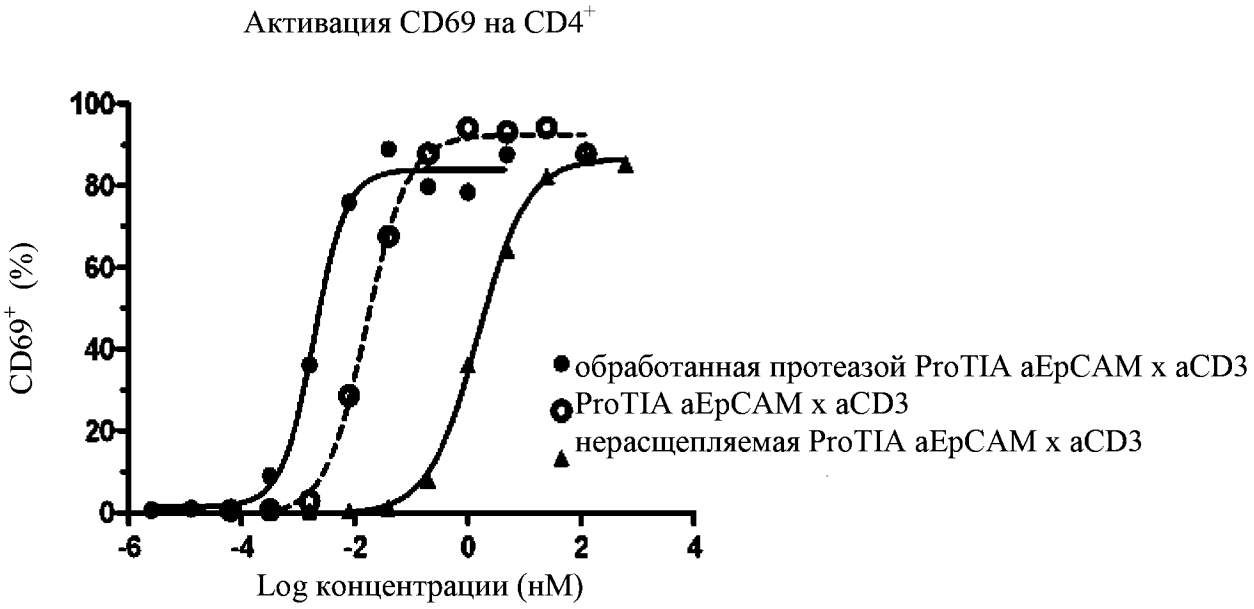


Фиг. 45

Фиг. 46A

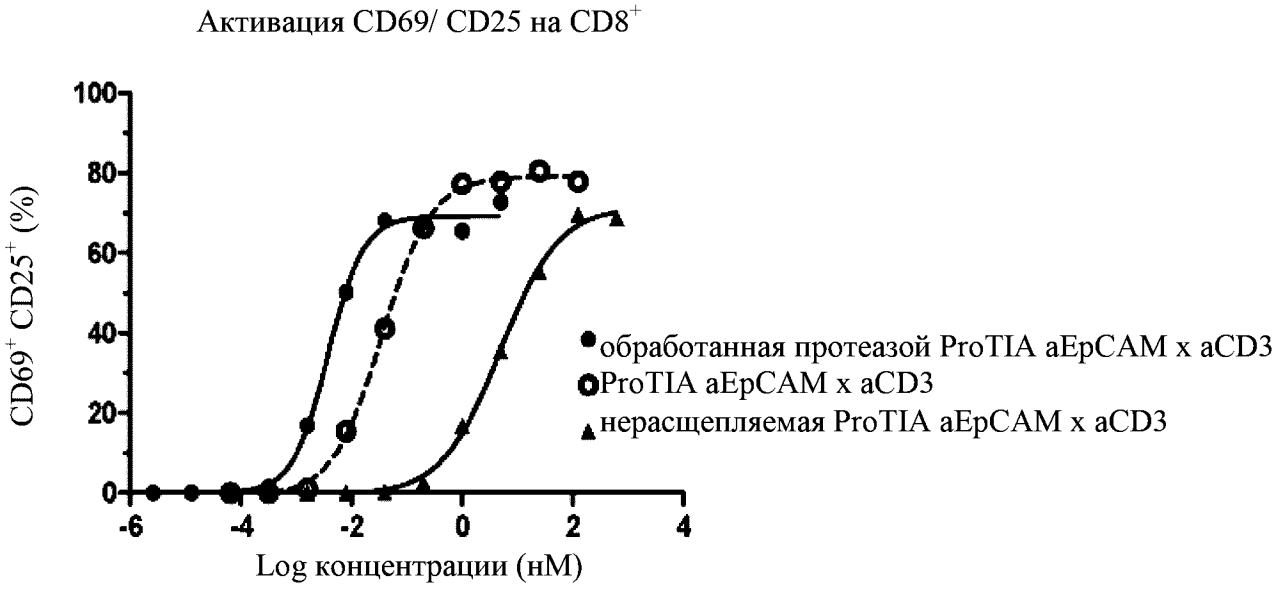


Фиг. 46B

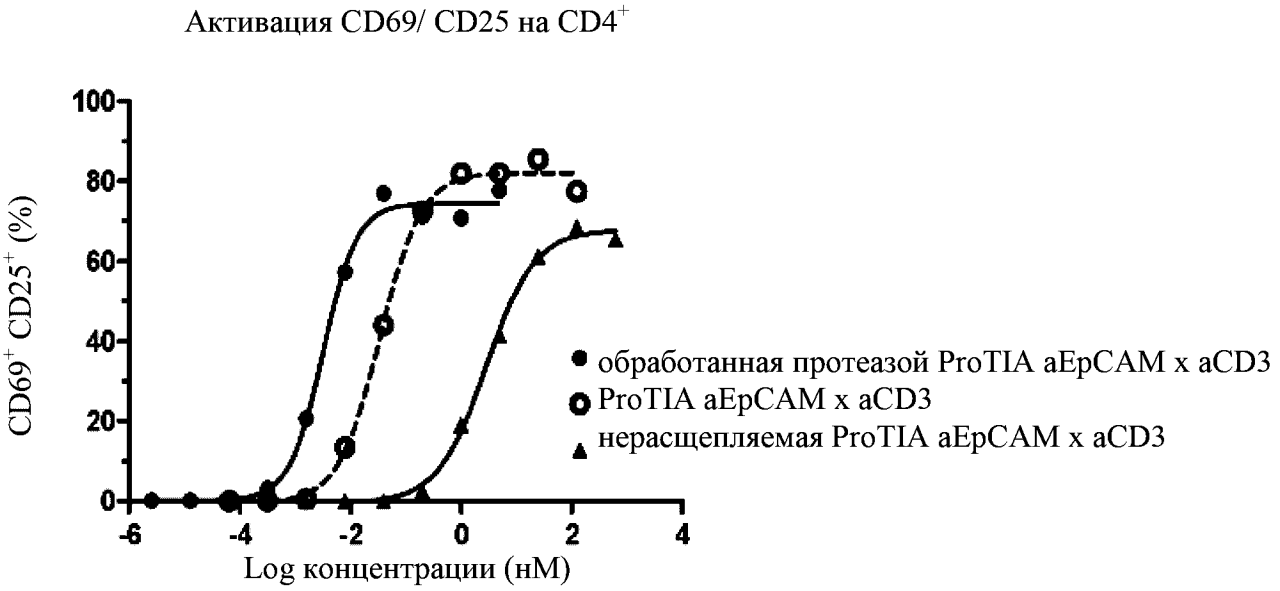


Фиг. 46

Фиг. 47A

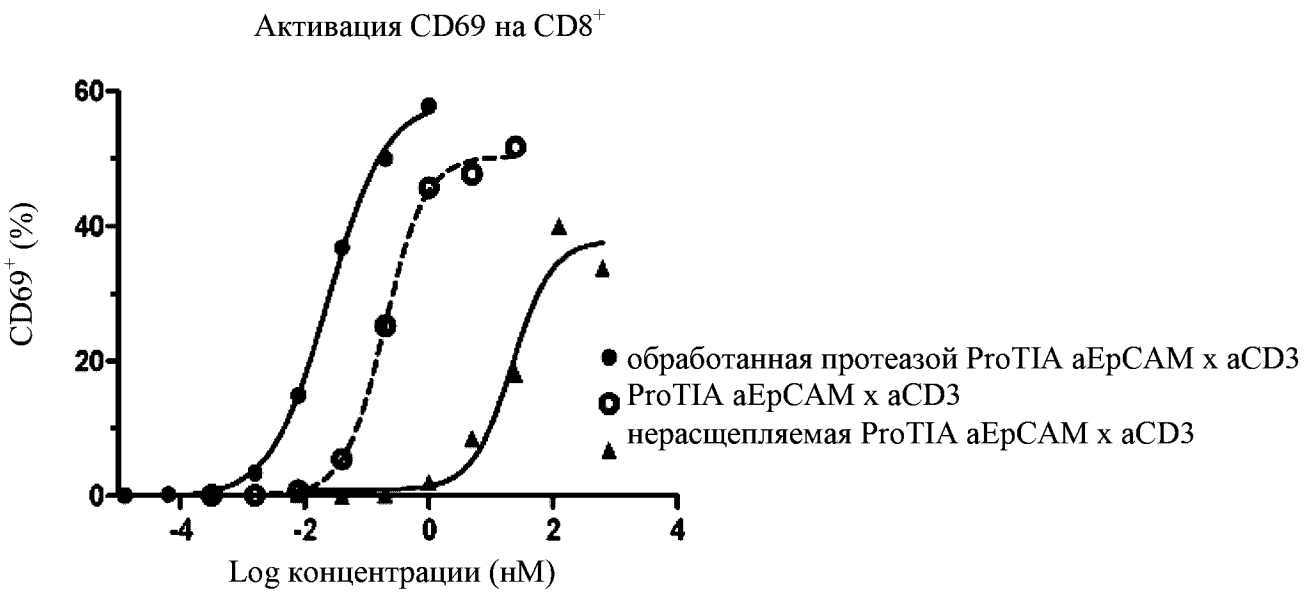


Фиг. 47B

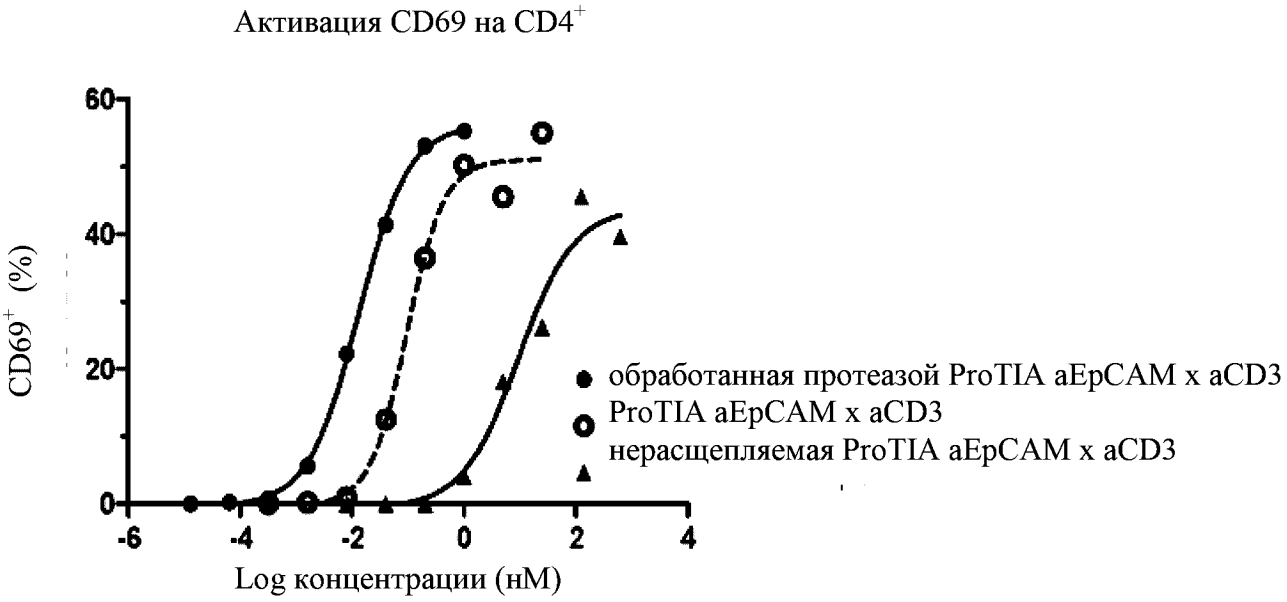


Фиг. 47

Фиг. 48A



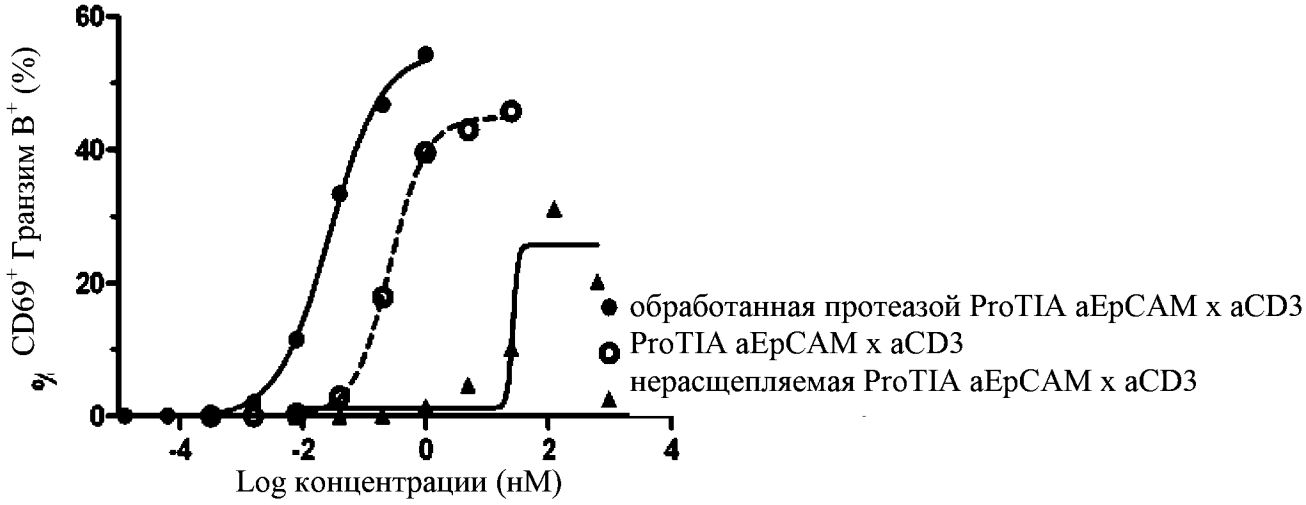
Фиг. 48B



Фиг. 48

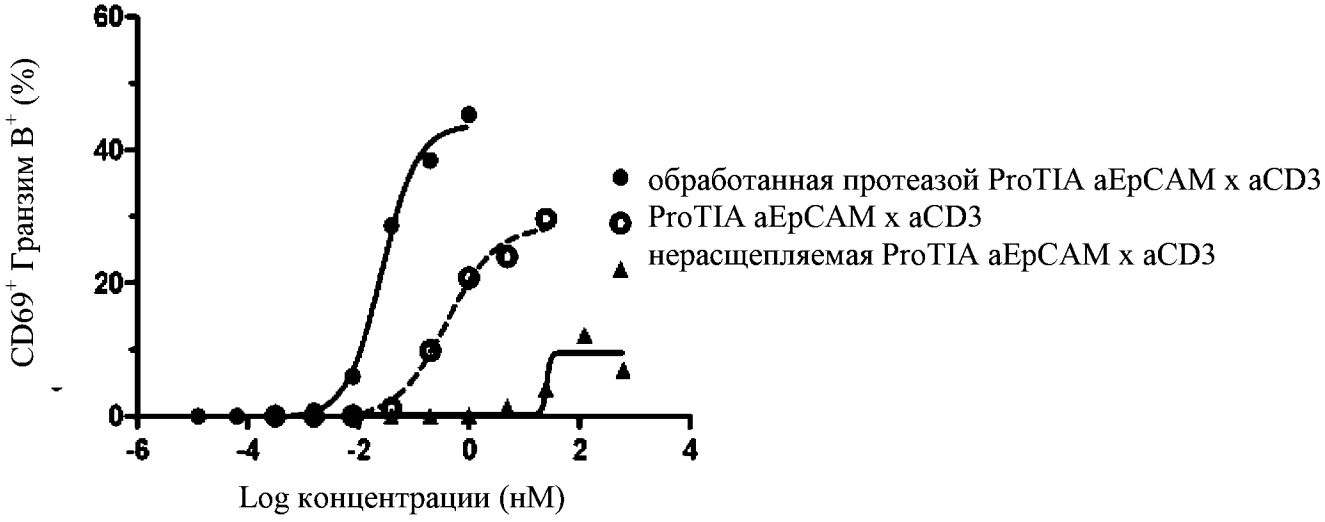
Фиг. 49A

Активация CD69/гранзима B на $CD8^+$



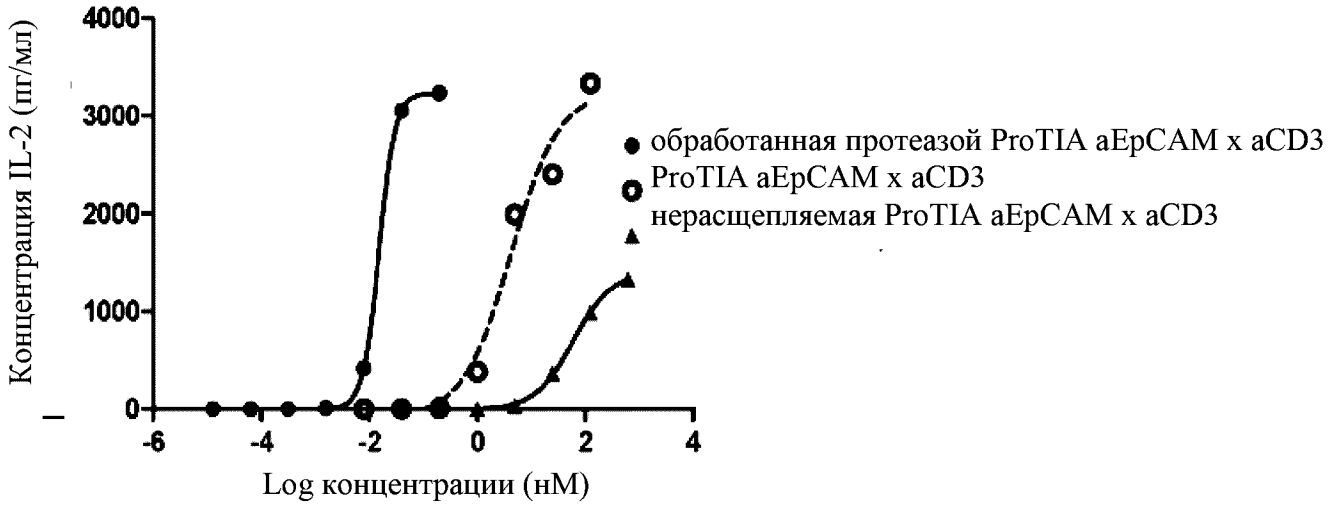
Фиг. 49B

Активация CD69/Гранзима B на $CD4^+$

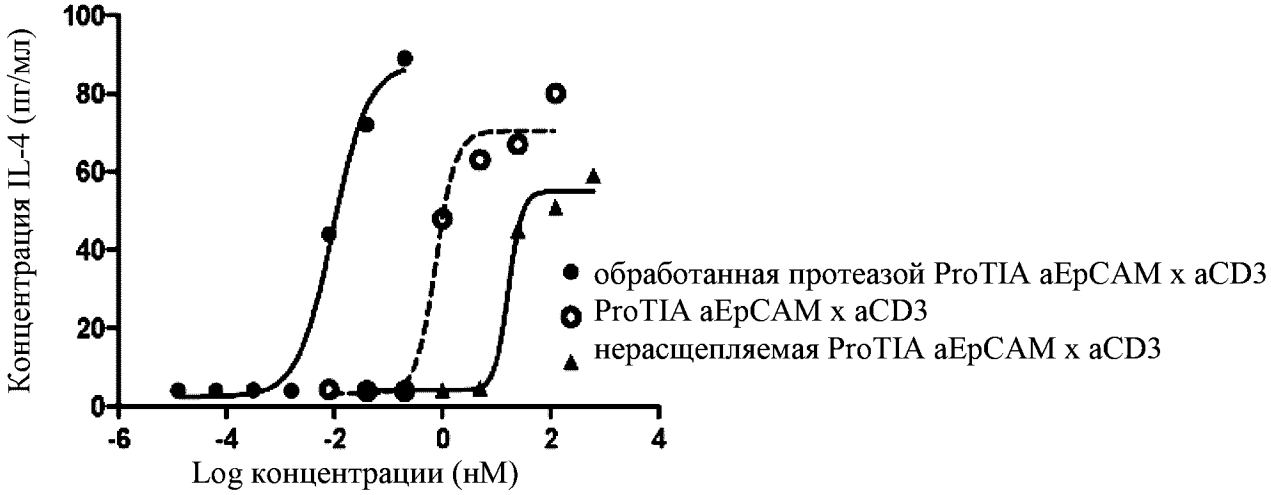


Фиг. 49

Фиг. 50A

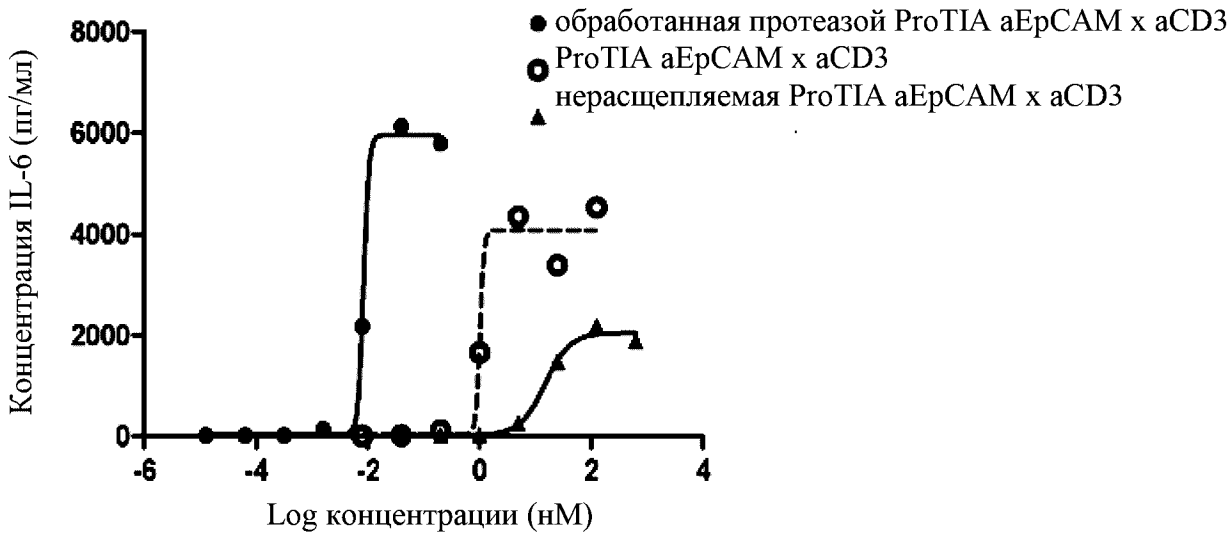


Фиг. 50B

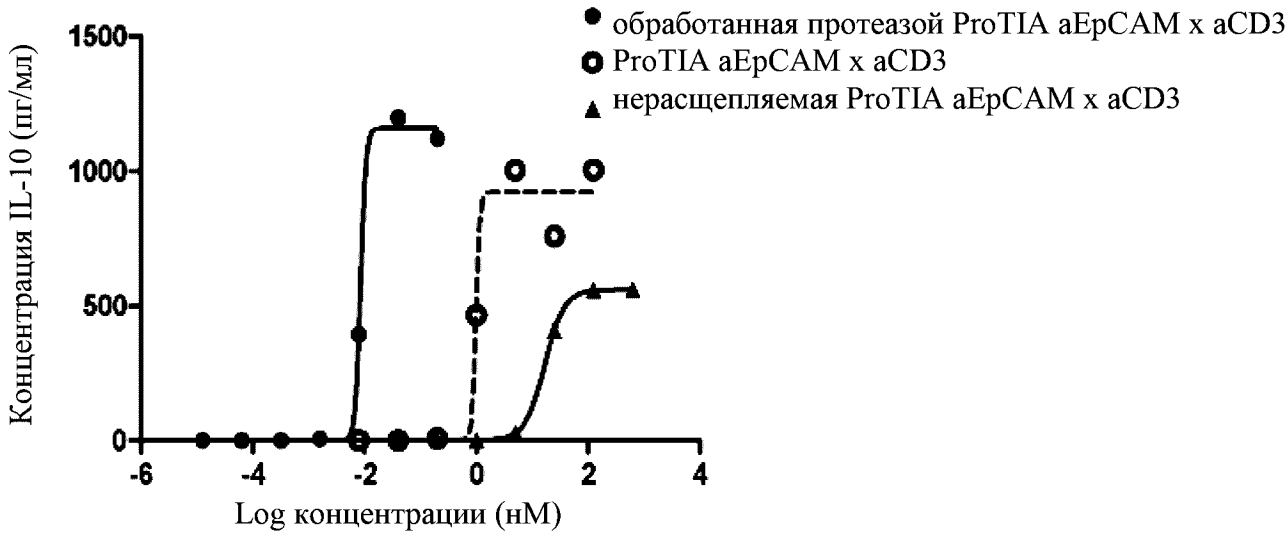


Фиг. 50

Фиг. 51A

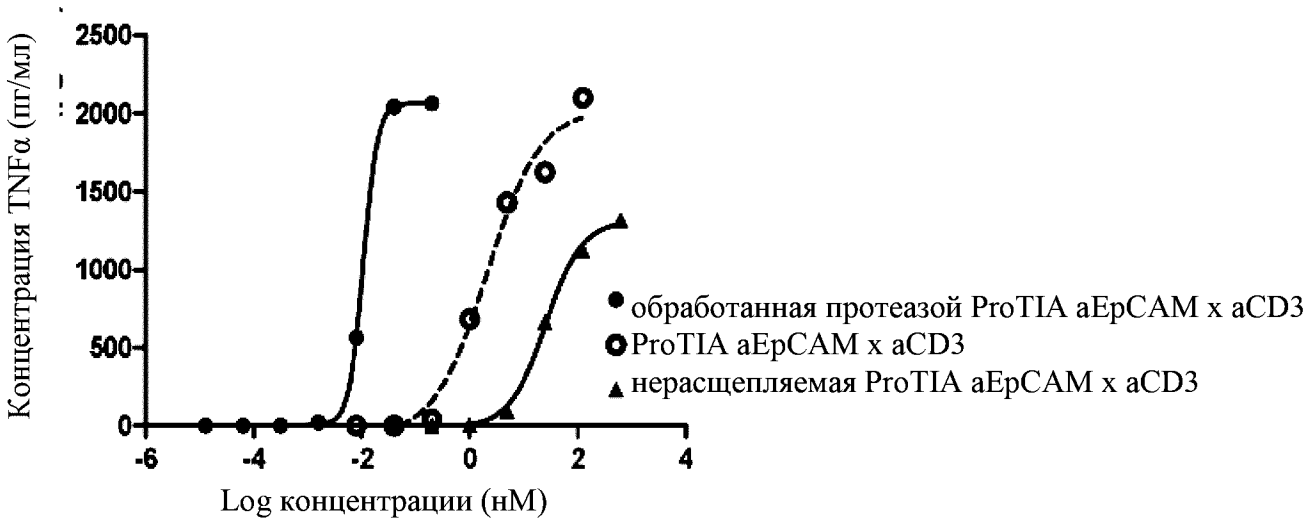


Фиг. 51B

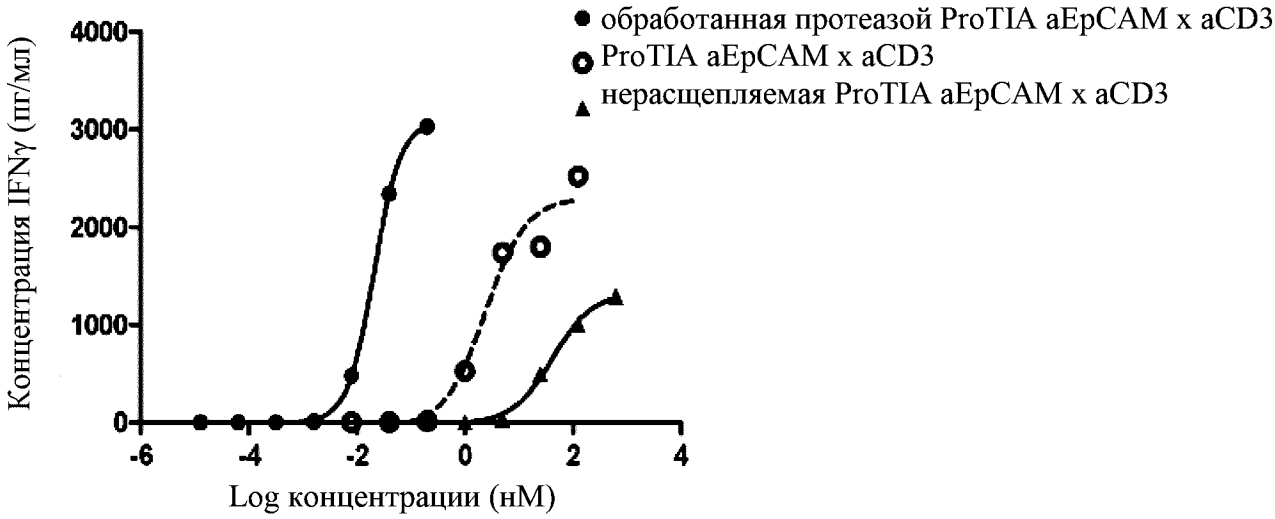


Фиг. 51

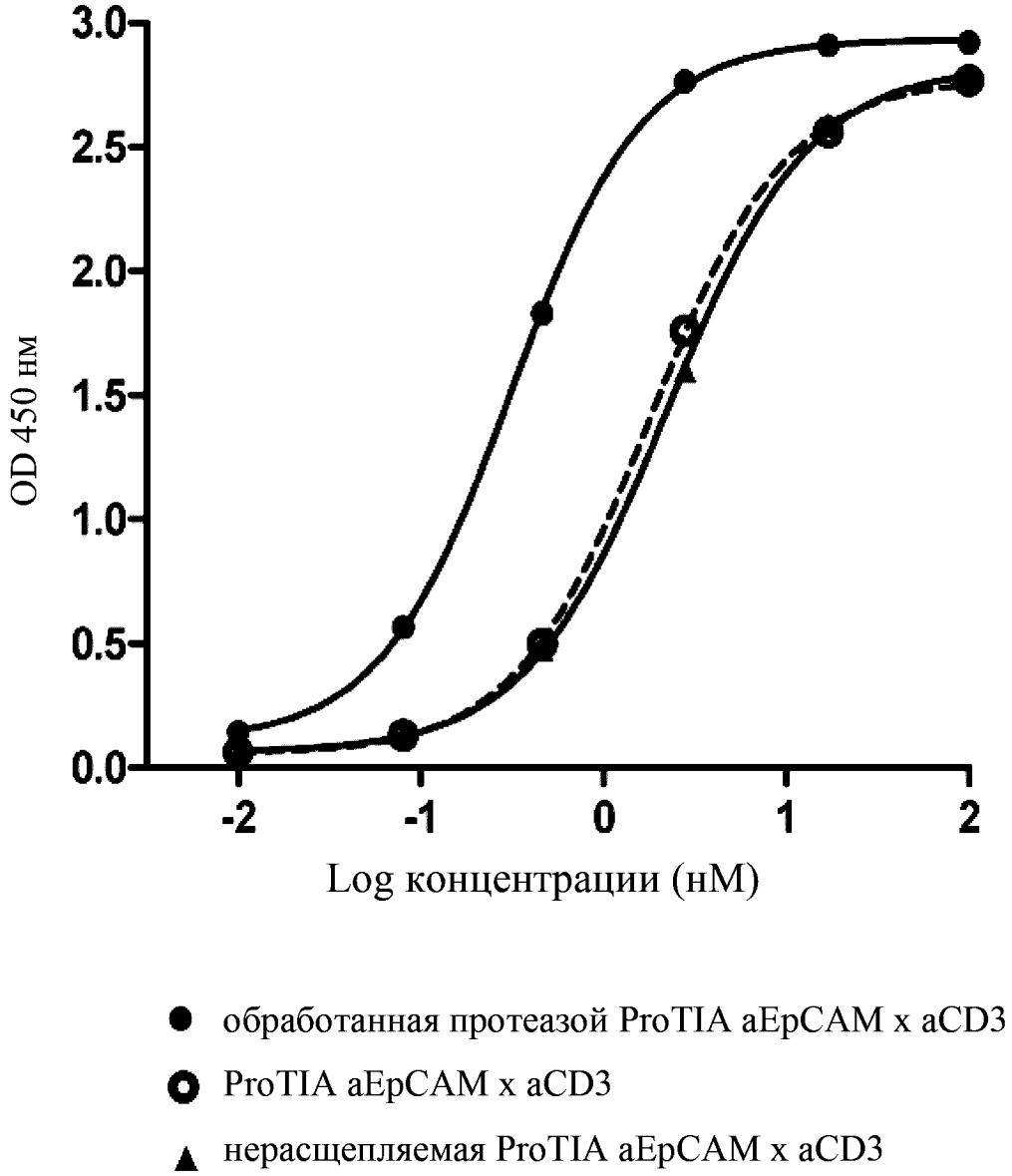
Фиг. 52A



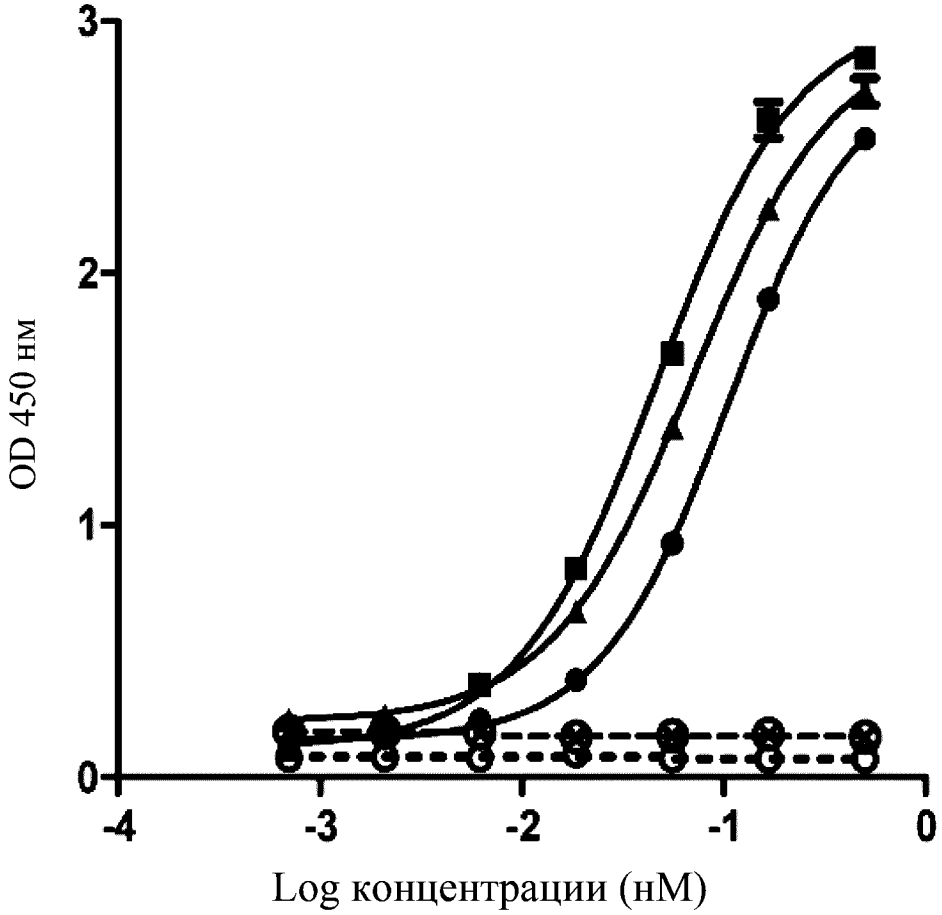
Фиг. 52B



Фиг. 52


3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD 450 нм
-2
-1
0
1
2
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 53



■ обработанная протеазой ProTIA aHER2 x aCD3 на планшете, покрытом HER2

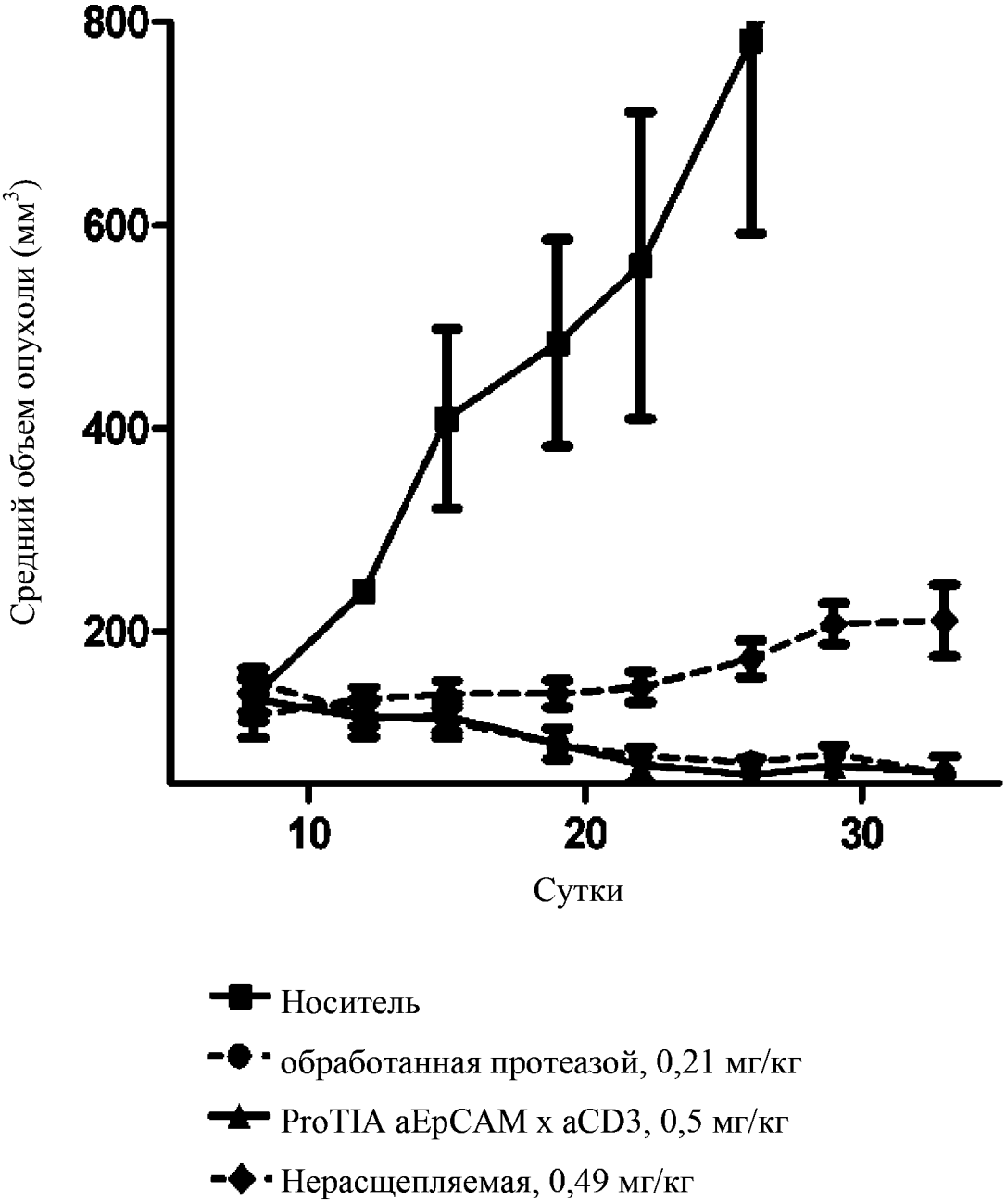
▲ обработанная протеазой ProTIA aCEA x aCD3 на планшете, покрытом CEA

● обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3 на планшете, покрытом EpCAM

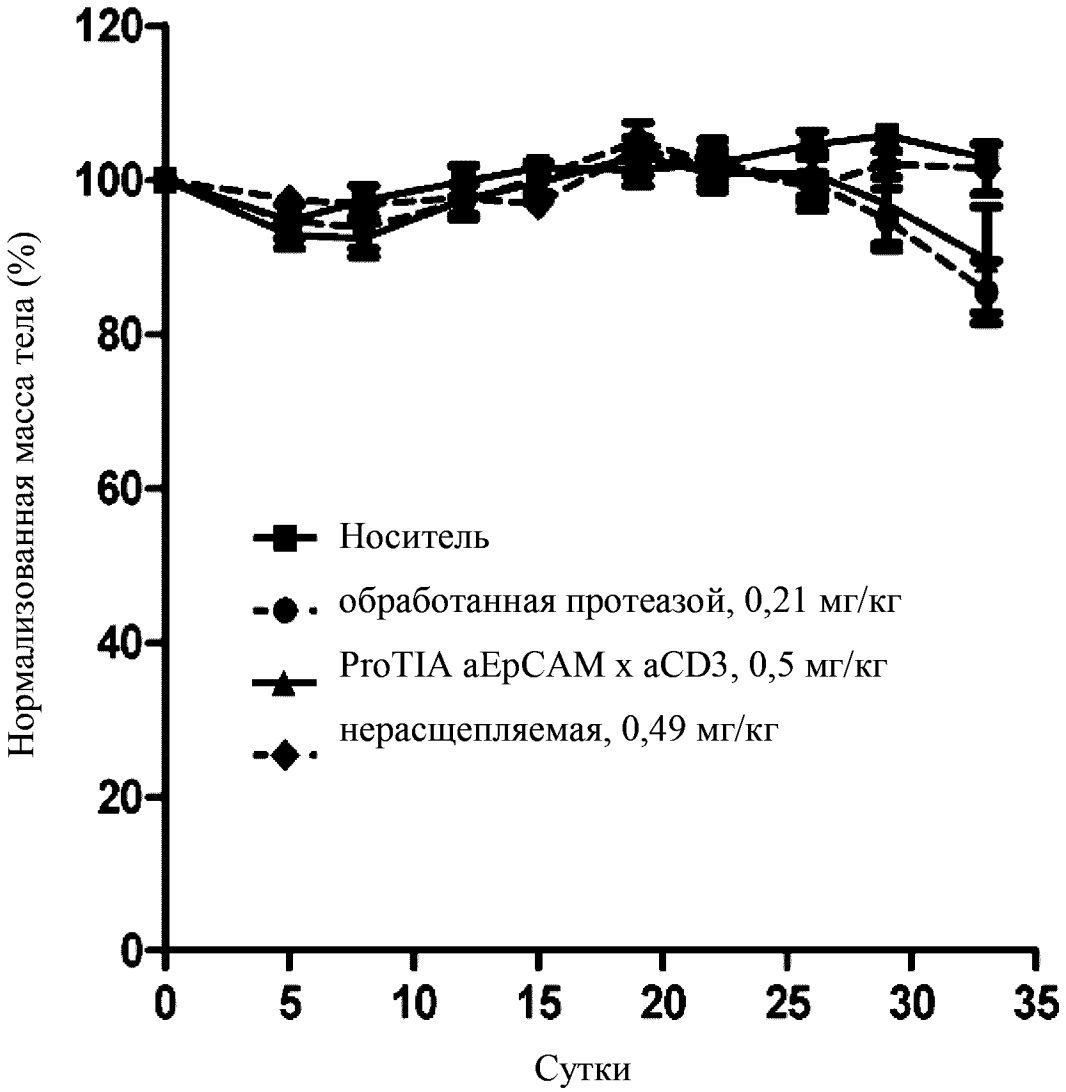
○ обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3 на планшете, покрытом HER2

⊗ обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3 на планшете, покрытом CEA

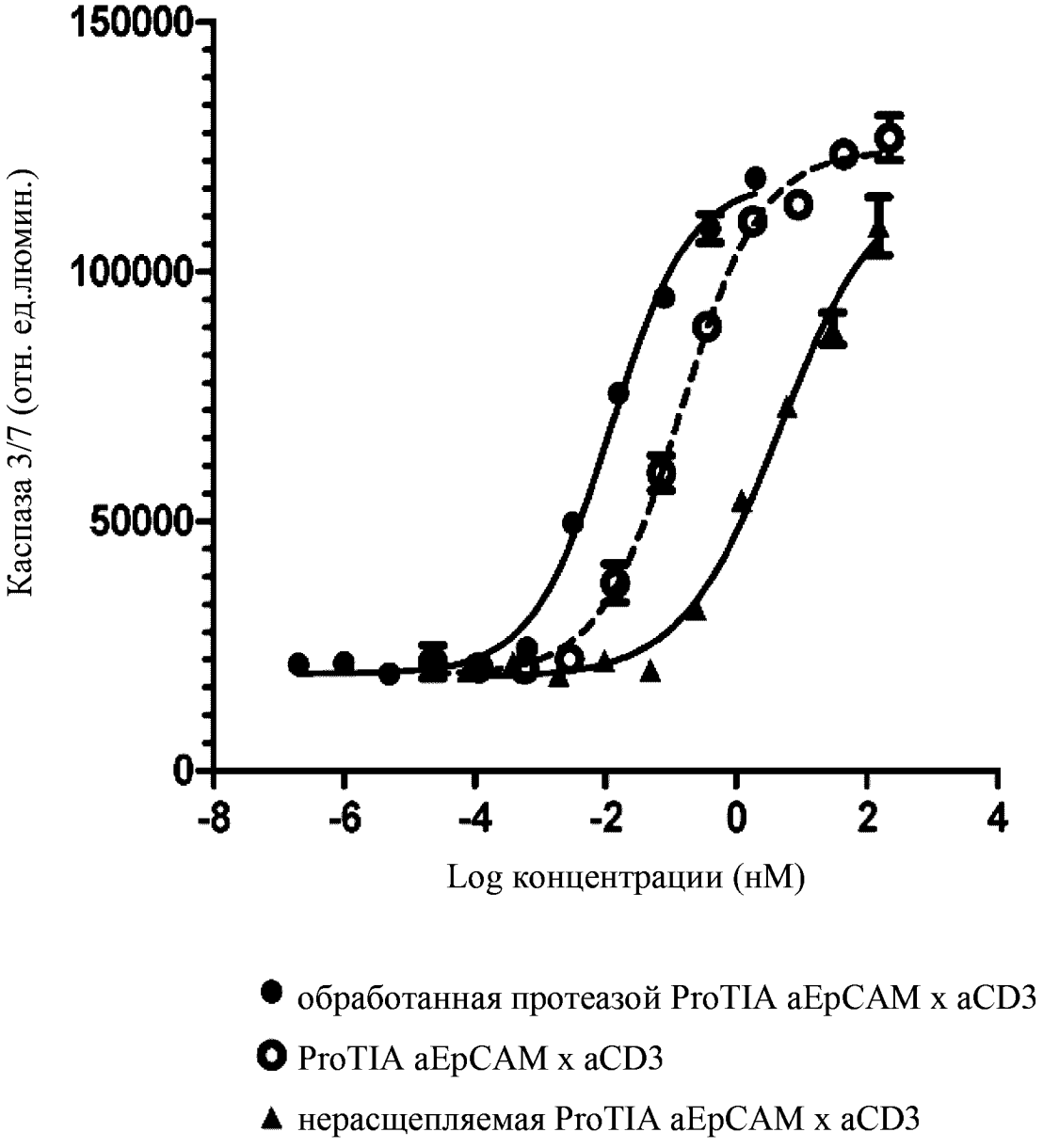
Фиг. 54


800
600
400
200
Средний объем опухоли (мм3)
10
20
30
Сутки
Носитель
обработанная протеазой, 0,21 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 0,5 мг/кг
Нерасщепляемая, 0,49 мг/кг

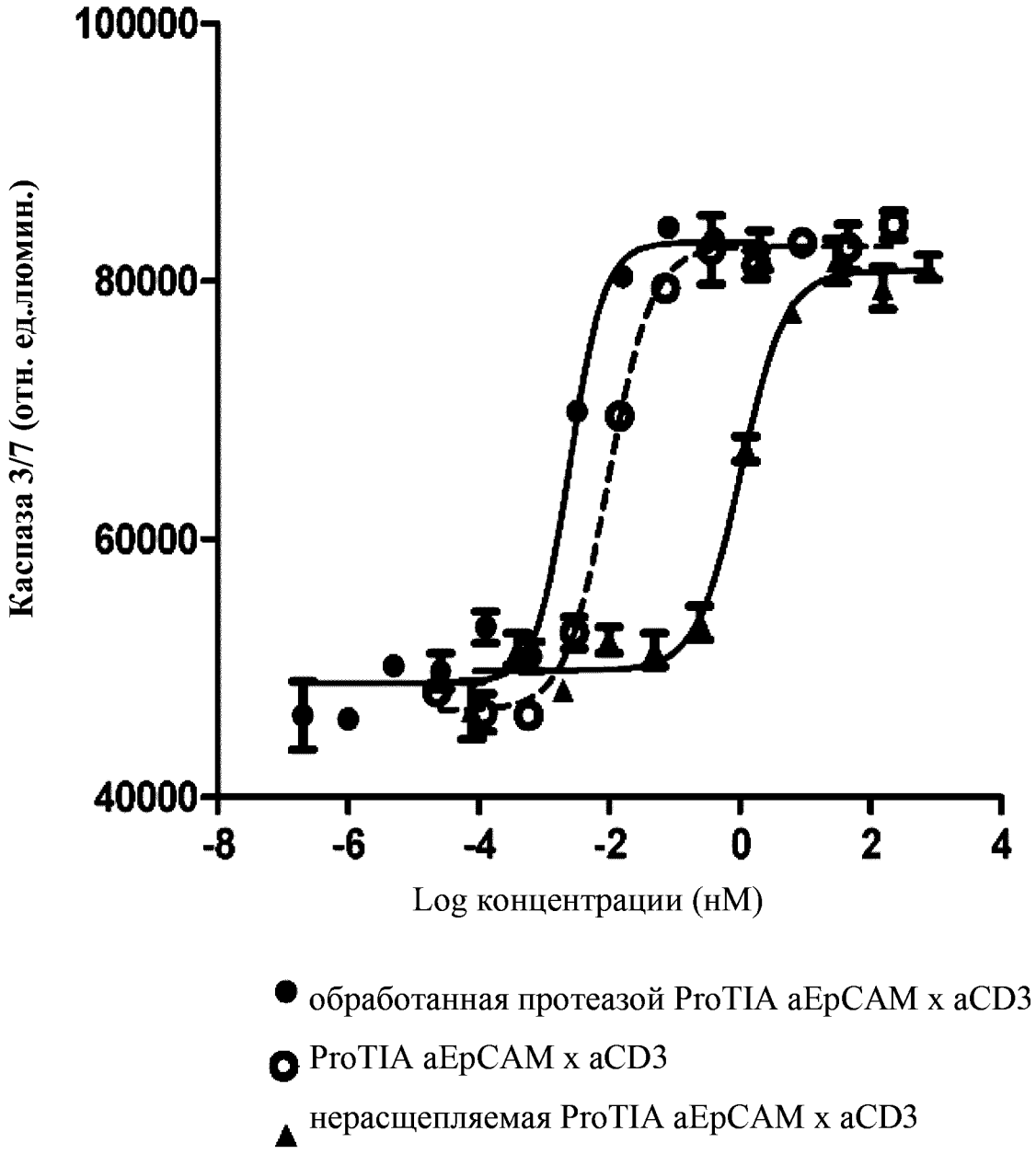
Фиг. 55


120
100
80
60
40
20
0
Нормализованная масса тела (%)
Носитель
обработанная протеазой, 0,21 мг/кг
ProTIA aEpCAM x aCD3, 0,5 мг/кг
нерасщепляемая, 0,49 мг/кг
0
5
10
15
20
25
30
35
Сутки

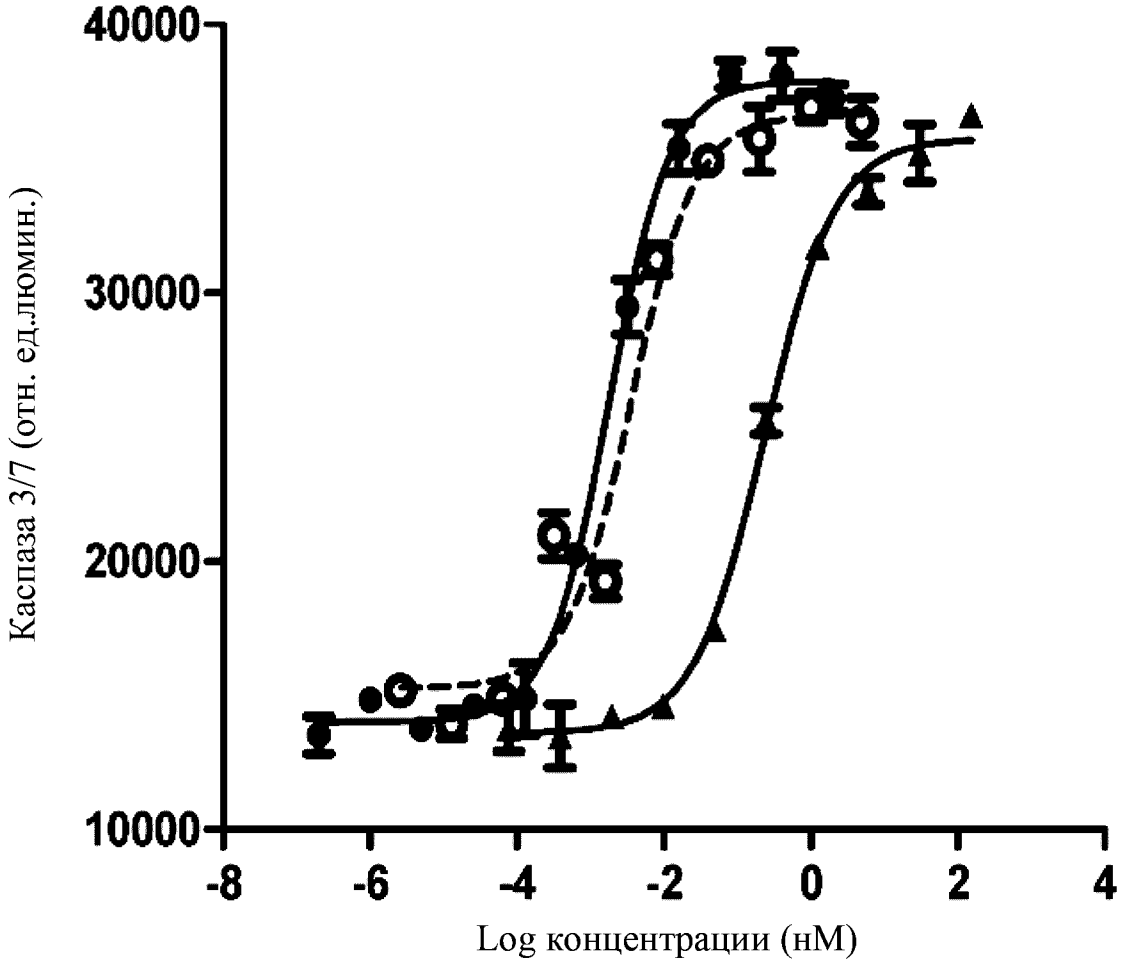
Фиг. 56


150000
100000
50000
0
Каспаза 3/7 (отн. ед.люмин.)
-8
-6
-4
-2
0
2
4
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 57


100000
80000
60000
40000
Каспаза 3/7 (отн. ед.люмин.)
-8
-6
-4
-2
0
2
4
Log концентрации (нМ)
обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3
ProTIA aEpCAM x aCD3
нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 58

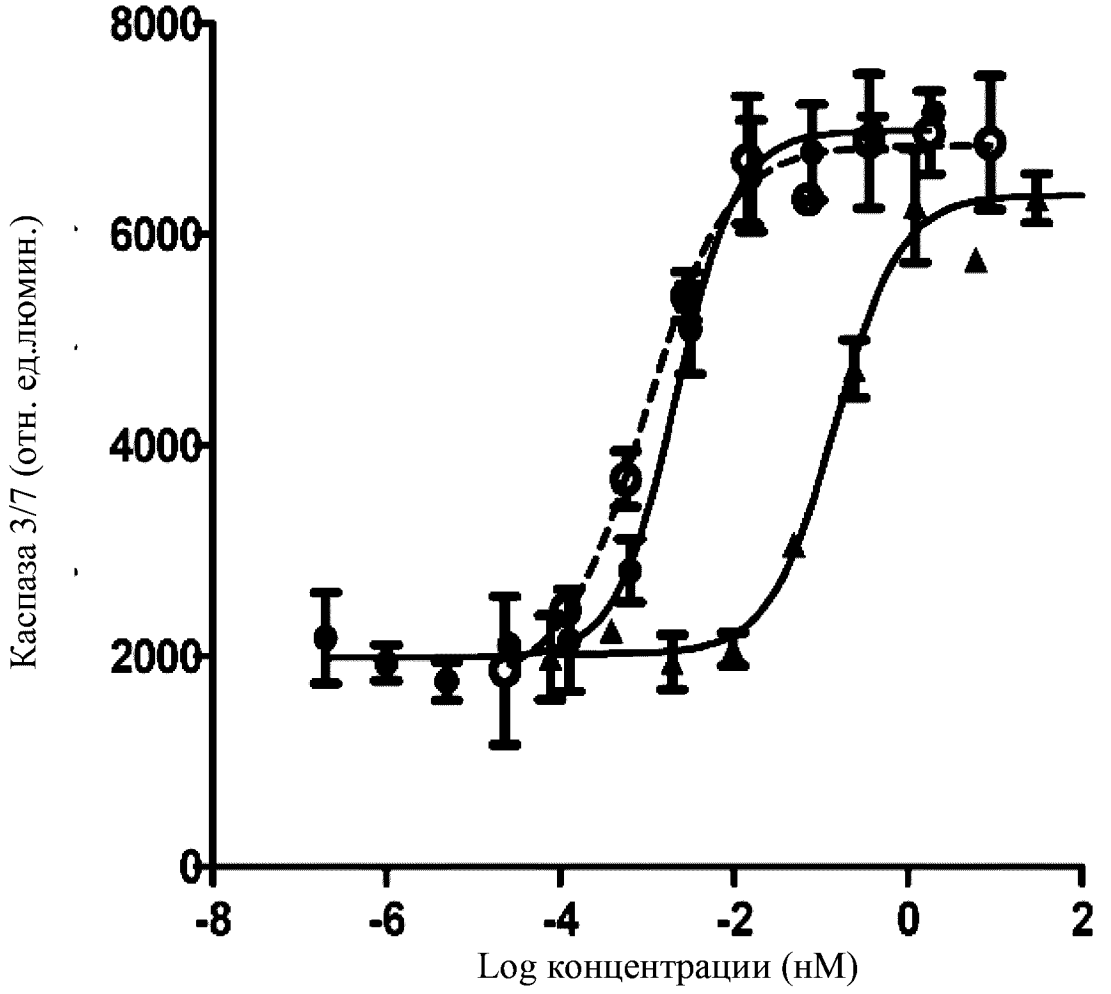


● обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3

○ ProTIA aEpCAM x aCD3

▲ нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 59

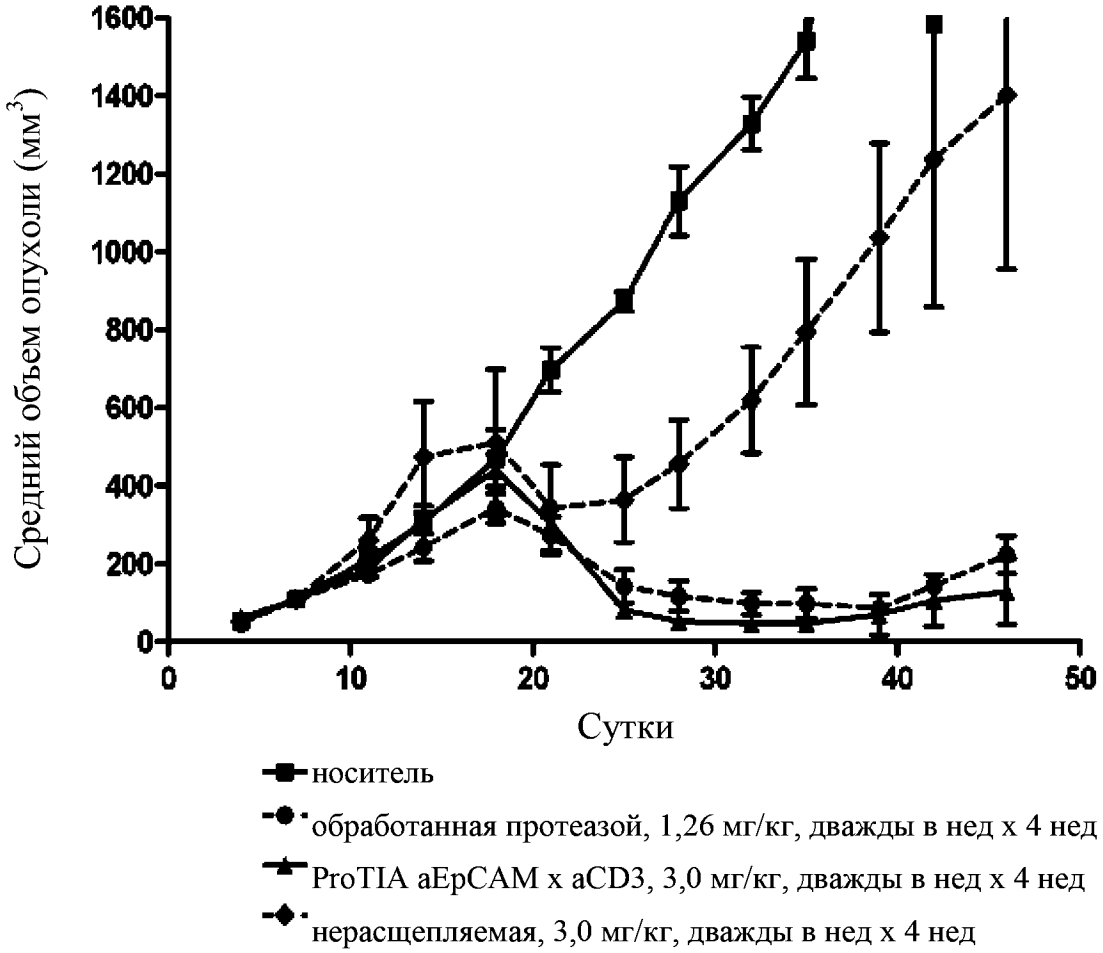


● обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3

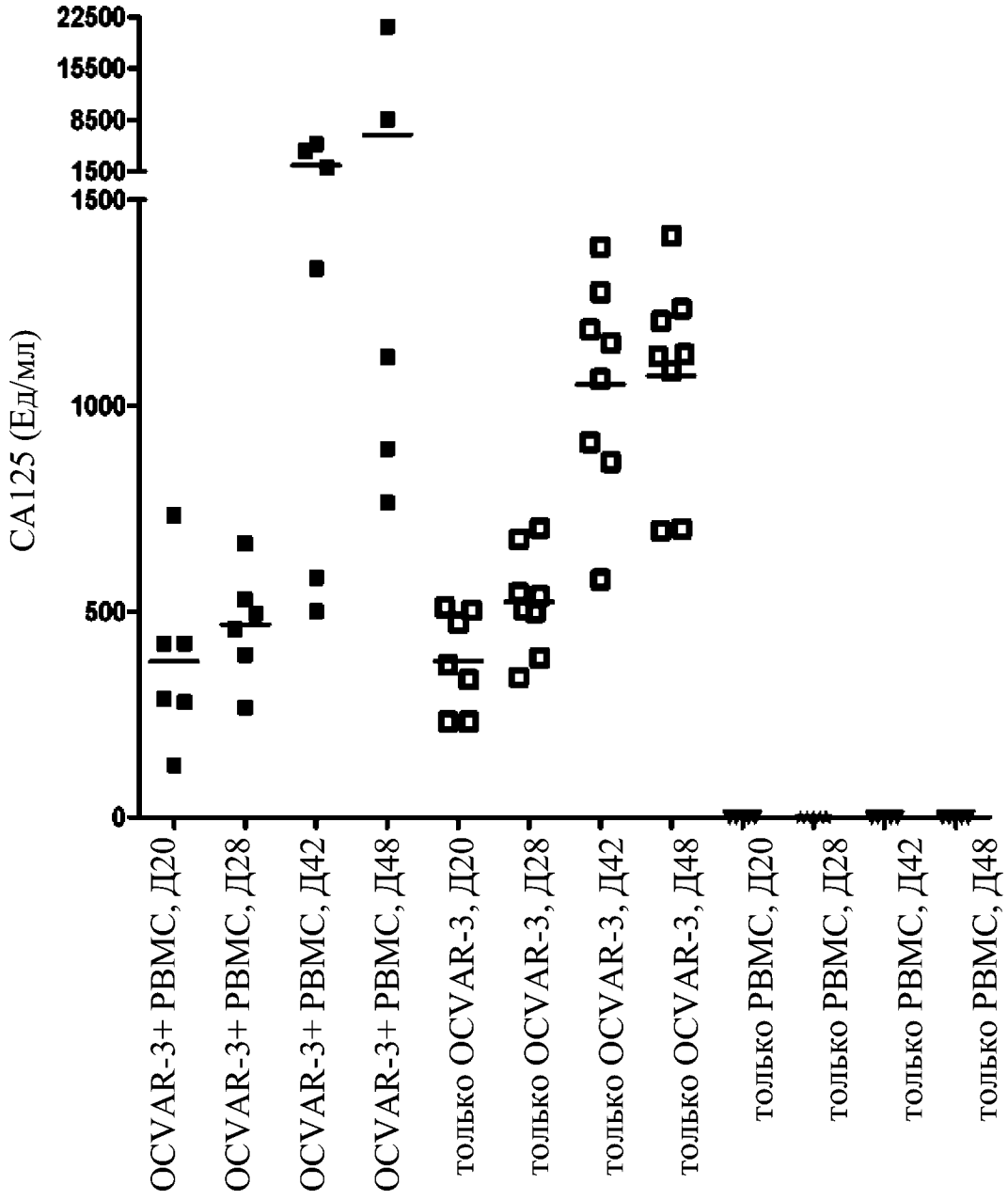
○ ProTIA aEpCAM x aCD3

▲ нерасщепляемая ProTIA aEpCAM x aCD3

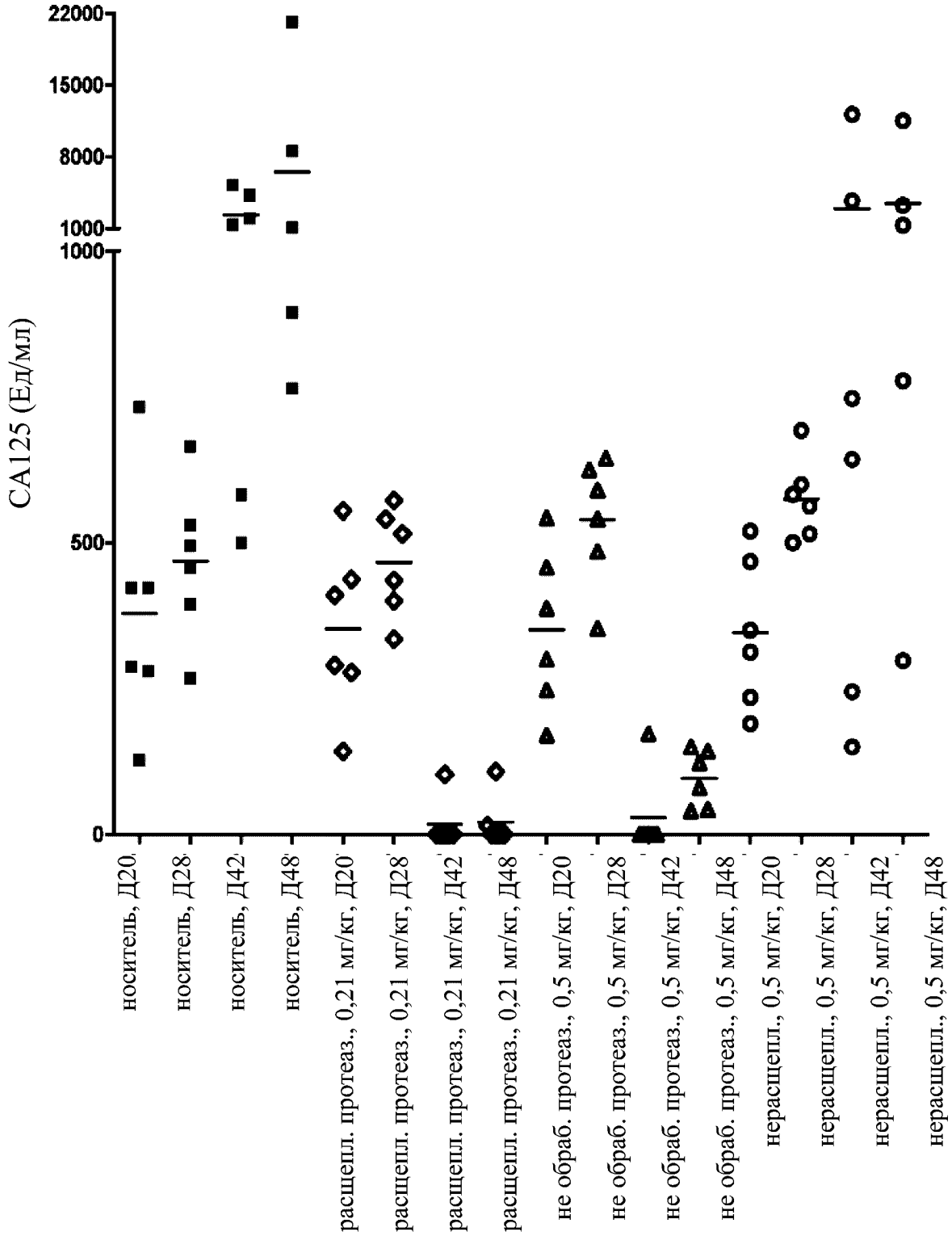
Фиг. 60


Средний объем опухоли (мм3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
Сутки
носитель
обработанная протеазой, 1,26 мг/кг, дважды в нед x 4 нед
ProTIA aEpCAM x aCD3, 3,0 мг/кг, дважды в нед x 4 нед
нерасщепляемая, 3,0 мг/кг, дважды в нед x 4 нед

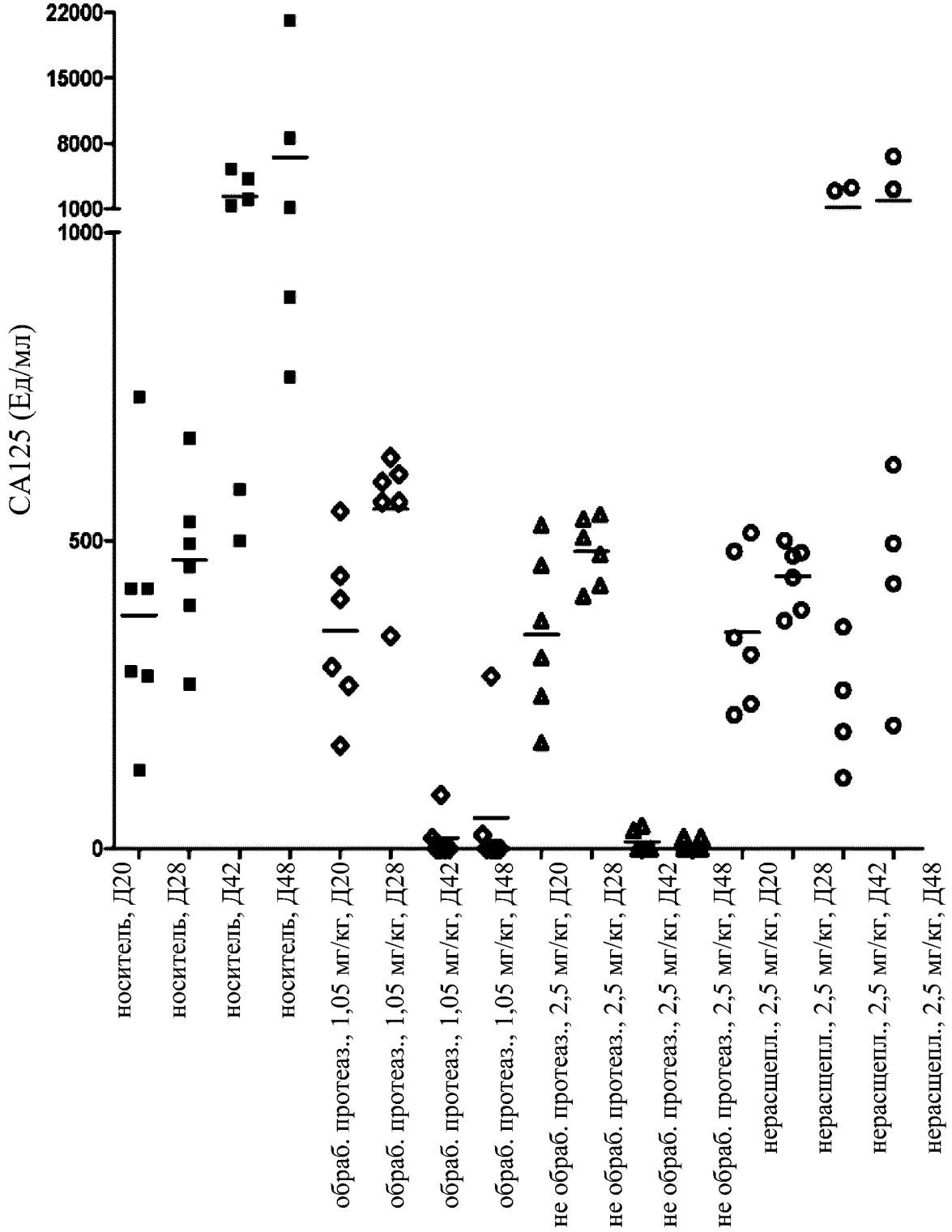
Фиг. 61


CA125 (Ед/мл)
22500
15500
8500
1500
1500
1000
500
0
OCVAR-3+ PBMC, Д20
OCVAR-3+ PBMC, Д28
OCVAR-3+ PBMC, Д42
OCVAR-3+ PBMC, Д48
только OCVAR-3, Д20
только OCVAR-3, Д28
только OCVAR-3, Д42
только OCVAR-3, Д48
только PBMC, Д20
только PBMC, Д28
только PBMC, Д42
только PBMC, Д48

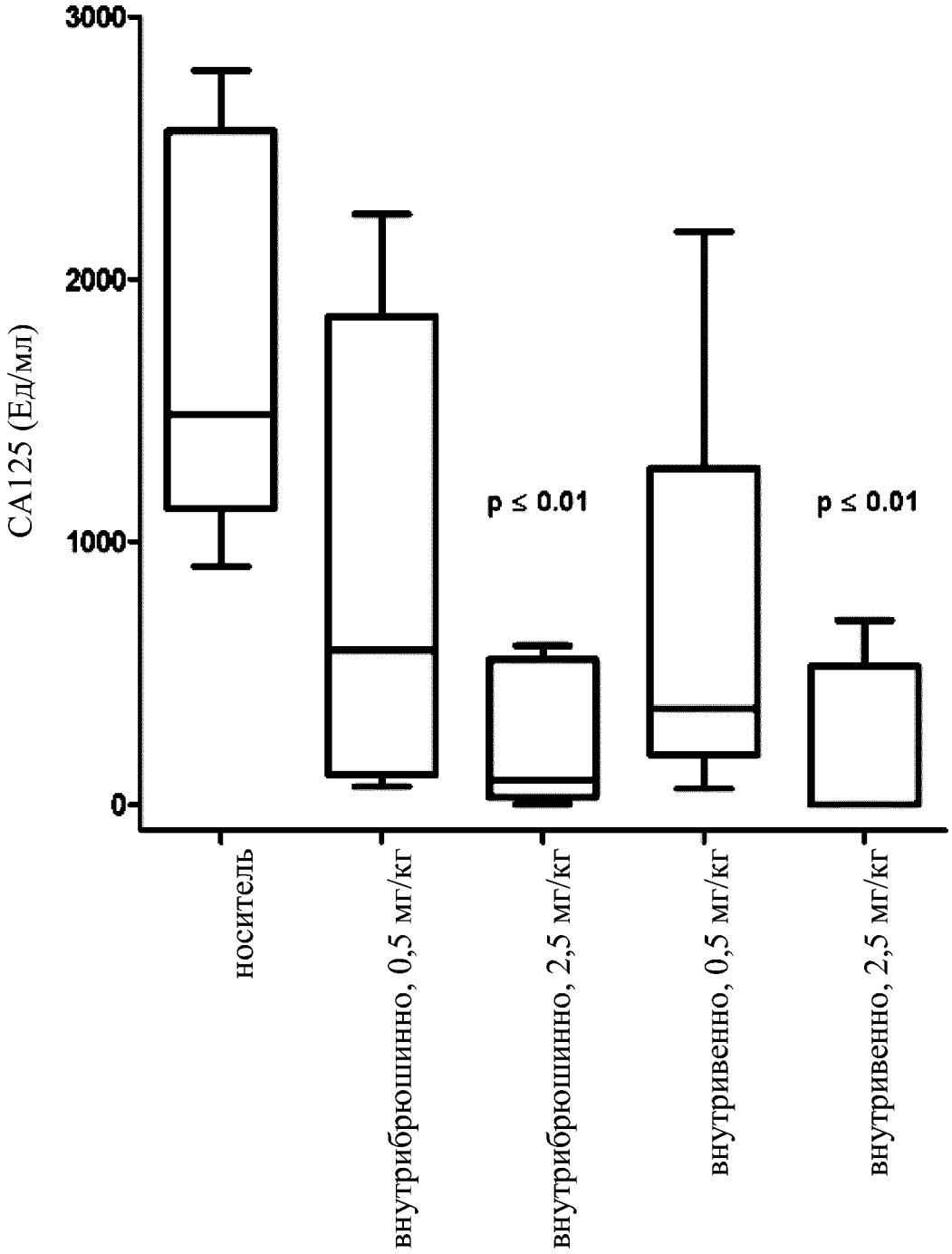
Фиг. 62


CA125 (Ед/мл)
22000
15000
8000
1000
1000
500
0
носитель, Д20
носитель, Д28
носитель, Д42
носитель, Д48
расщепл. протеаз., 0,21 мг/кг, Д20
расщепл. протеаз., 0,21 мг/кг, Д28
расщепл. протеаз., 0,21 мг/кг, Д42
расщепл. протеаз., 0,21 мг/кг, Д48
не обраб. протеаз., 0,5 мг/кг, Д20
не обраб. протеаз., 0,5 мг/кг, Д28
не обраб. протеаз., 0,5 мг/кг, Д42
не обраб. протеаз., 0,5 мг/кг, Д48
нерасщепл., 0,5 мг/кг, Д20
нерасщепл., 0,5 мг/кг, Д28
нерасщепл., 0,5 мг/кг, Д42
нерасщепл., 0,5 мг/кг, Д48

Фиг. 63

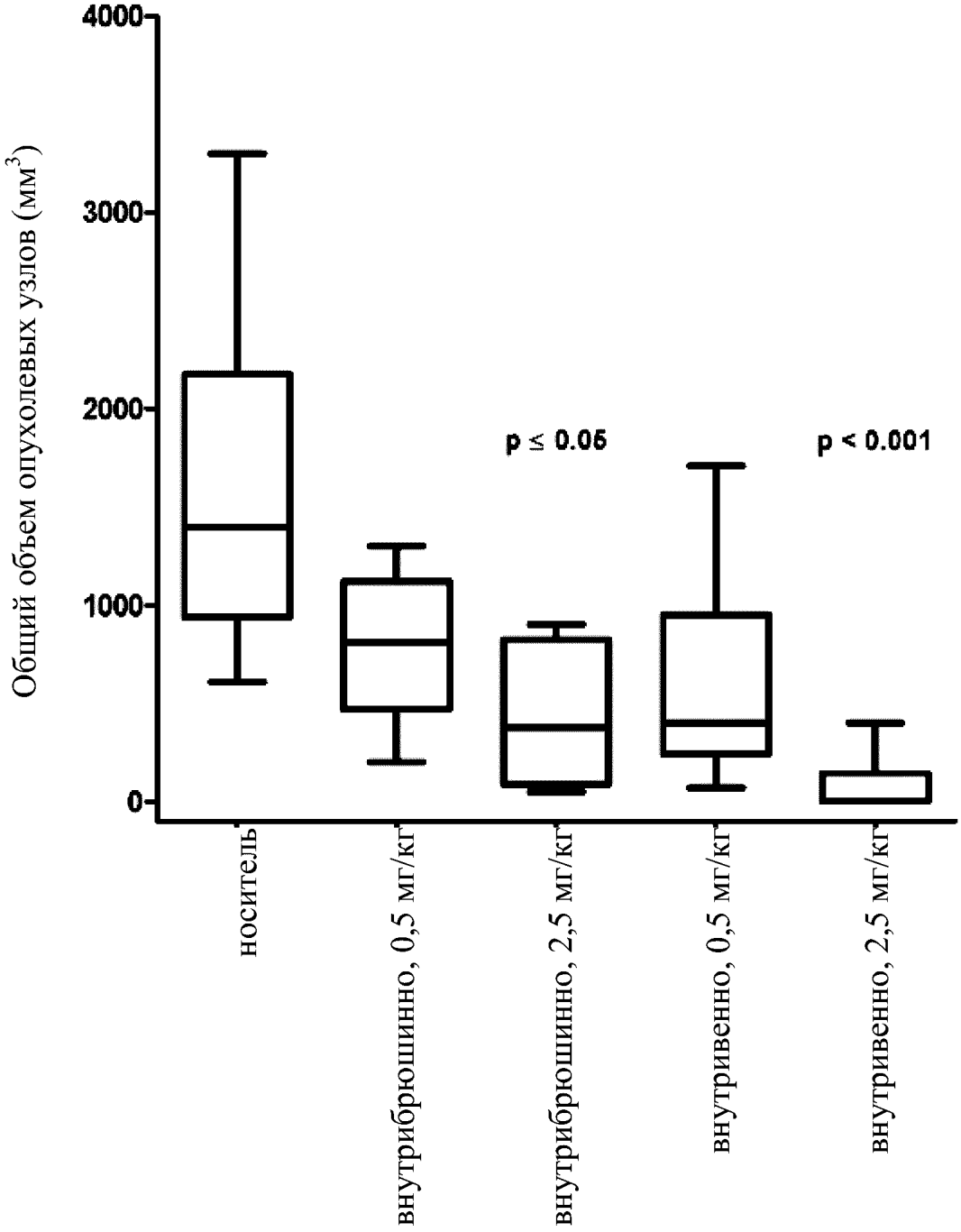

CA125 (Ед/мл)
22000
15000
8000
1000
1000
500
0
носитель, Д20
носитель, Д28
носитель, Д42
носитель, Д48
обраб. протеаз., 1,05 мг/кг, Д20
обраб. протеаз., 1,05 мг/кг, Д28
обраб. протеаз., 1,05 мг/кг, Д42
обраб. протеаз., 1,05 мг/кг, Д48
не обраб. протеаз., 2,5 мг/кг, Д20
не обраб. протеаз., 2,5 мг/кг, Д28
не обраб. протеаз., 2,5 мг/кг, Д42
не обраб. протеаз., 2,5 мг/кг, Д48
нерасщепл., 2,5 мг/кг, Д20
нерасщепл., 2,5 мг/кг, Д28
нерасщепл., 2,5 мг/кг, Д42
нерасщепл., 2,5 мг/кг, Д48

Фиг. 64



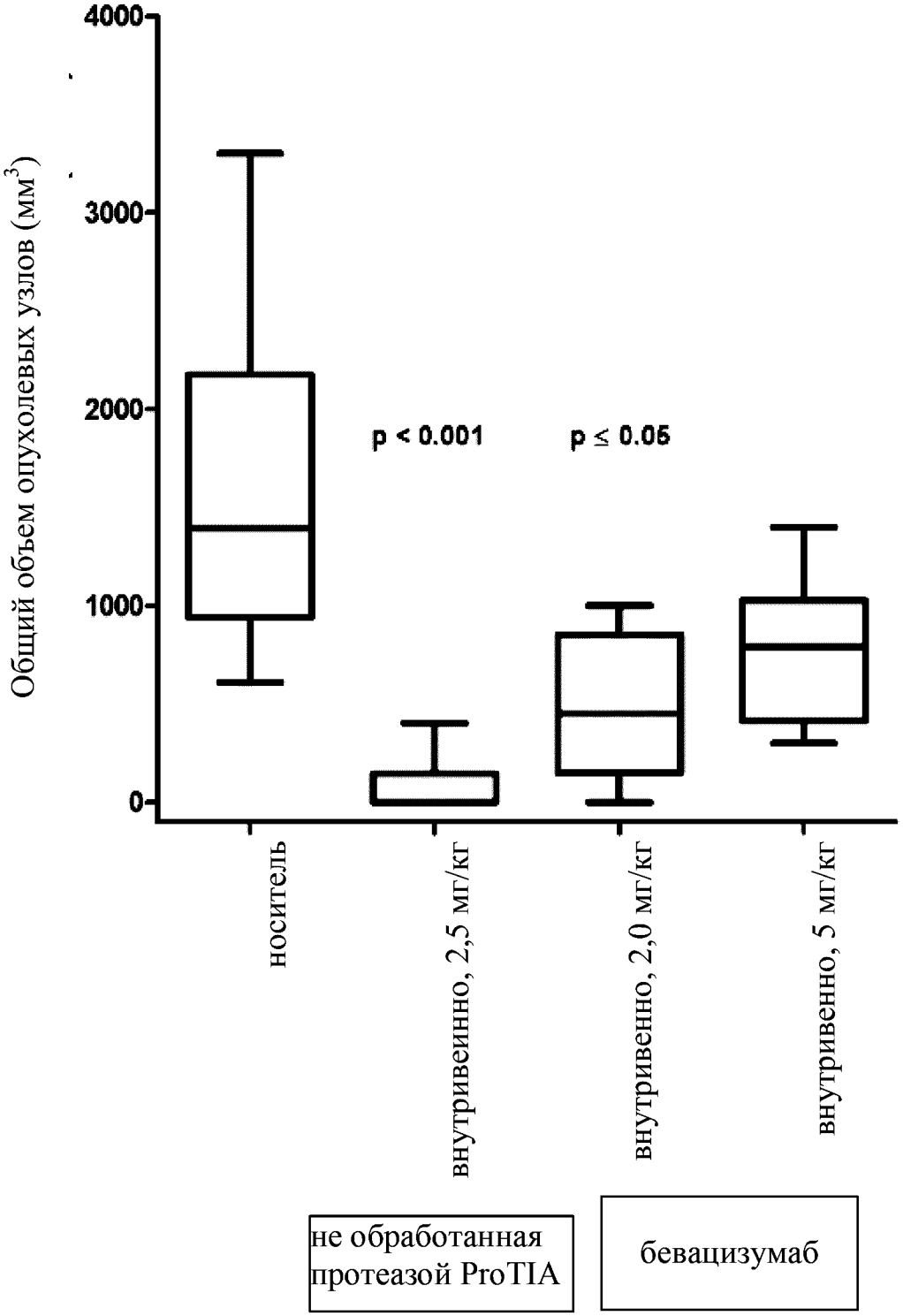
не обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 65

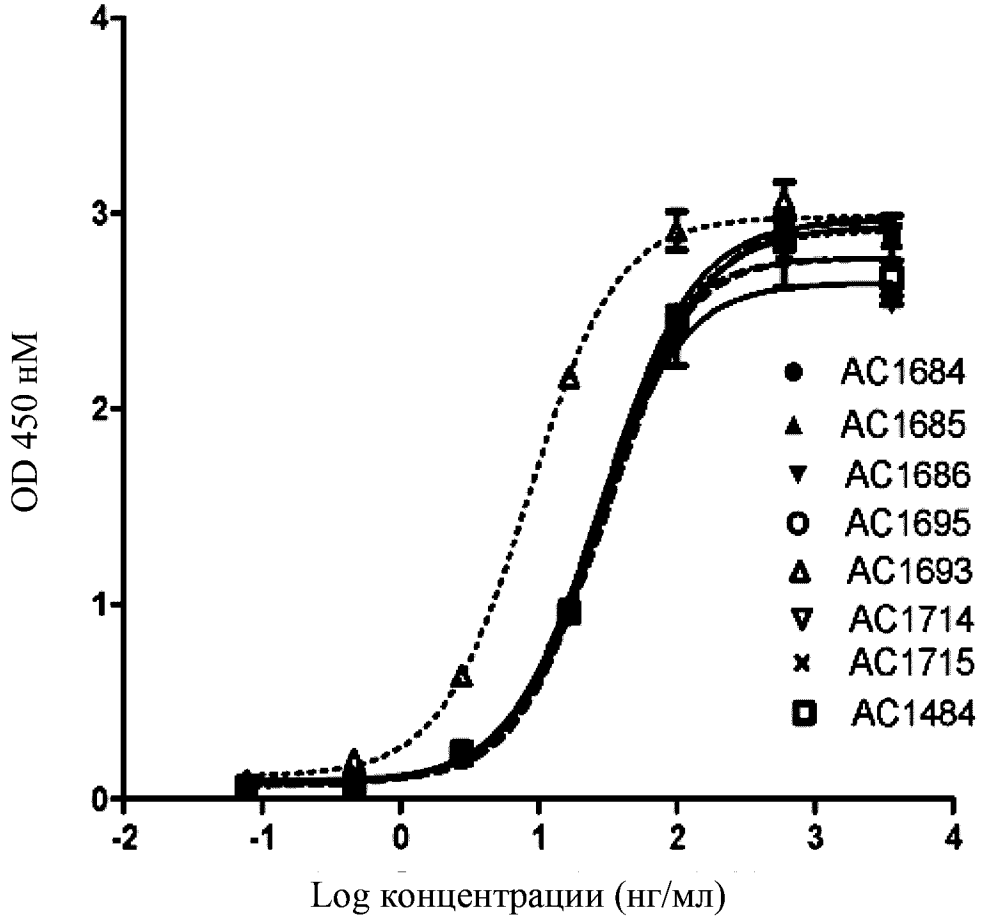


не обработанная протеазой ProTIA aEpCAM x aCD3

Фиг. 66

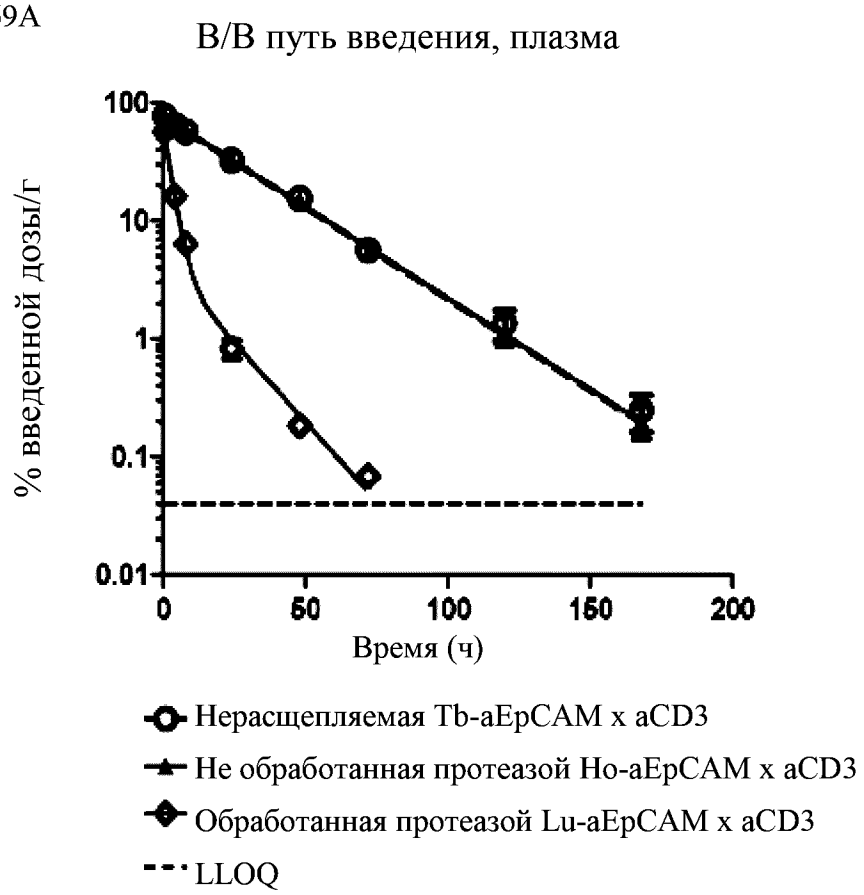

Общий объем опухолевых узлов (мм^3)
4000
3000
2000
1000
0
p < 0.001
p ≤ 0.05
носитель
внутривенно, 2,5 мг/кг
внутривенно, 2,0 мг/кг
внутривенно, 5 мг/кг
не обработанная протеазой ProTIA
бевацизумаб

Фиг. 67

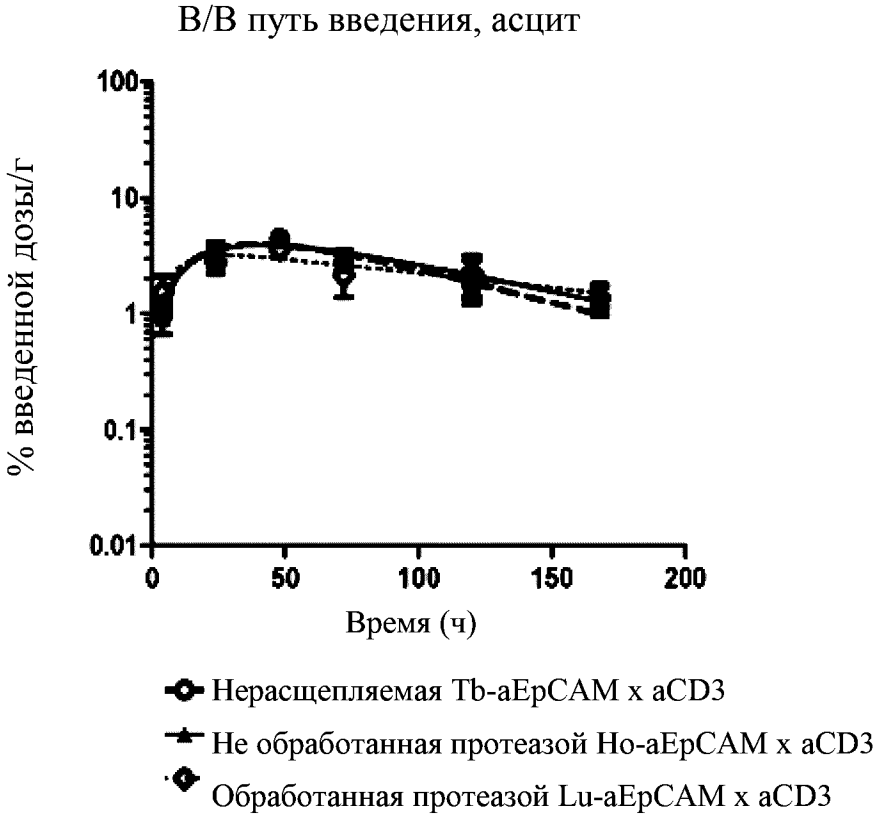

OD 450 нМ
4
3
2
1
0
-2
-1
0
1
2
3
4
AC1684
AC1685
AC1686
AC1695
AC1693
AC1714
AC1715
AC1484
Log концентрации (нг/мл)

Фиг. 68

Фиг. 69A

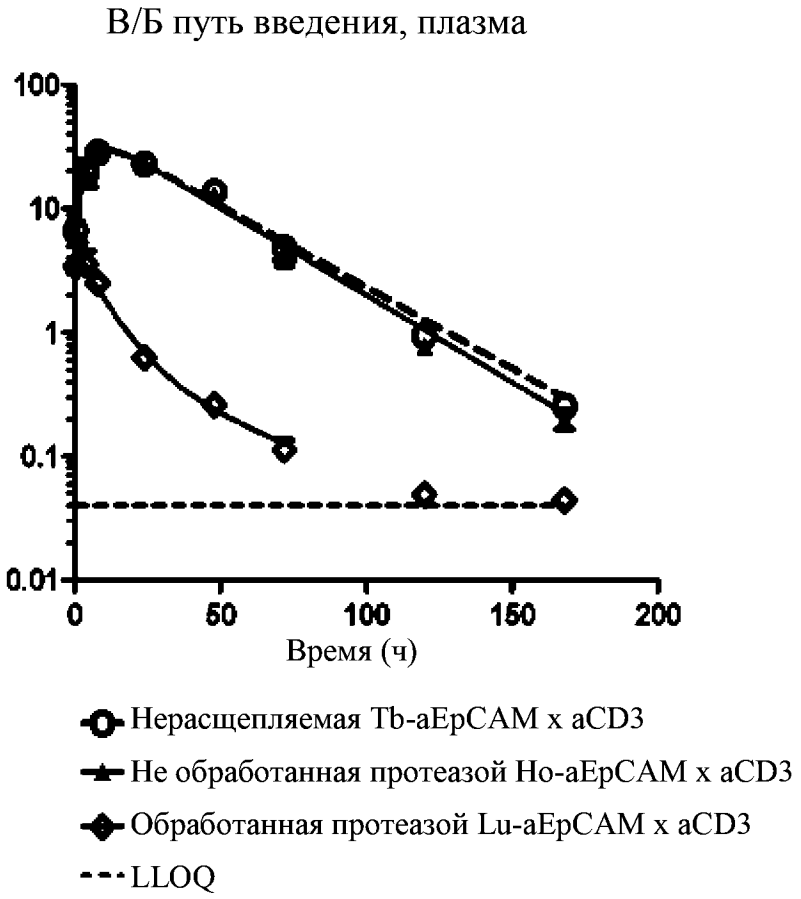


Фиг. 69B

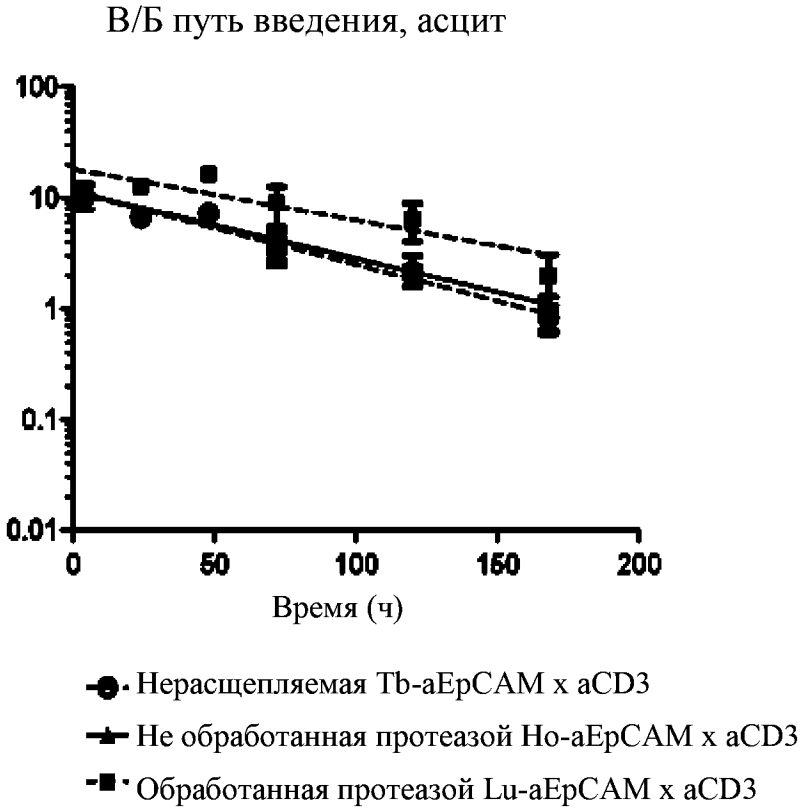


Фиг. 69

Фиг. 70A

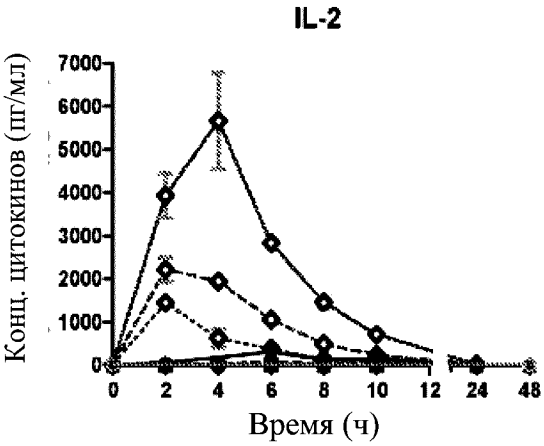


Фиг. 70B

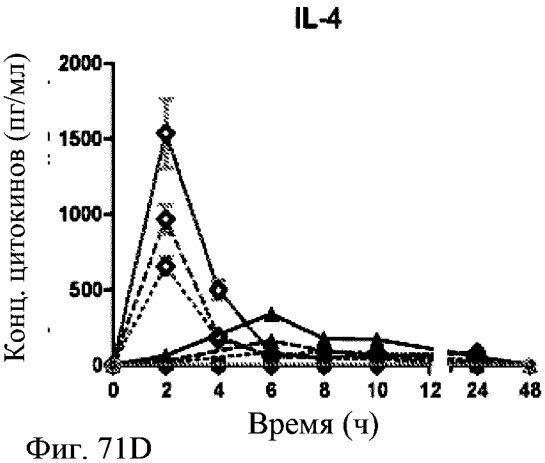


Фиг. 70

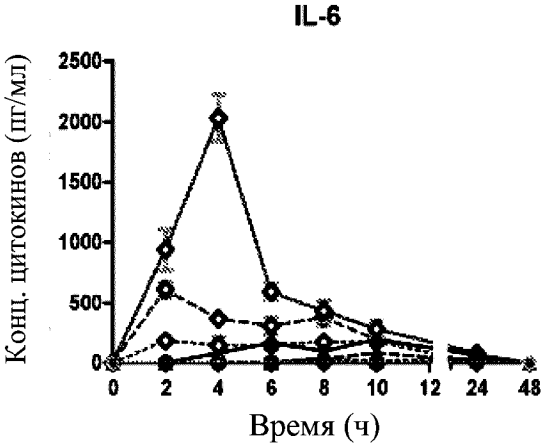
Фиг. 71A



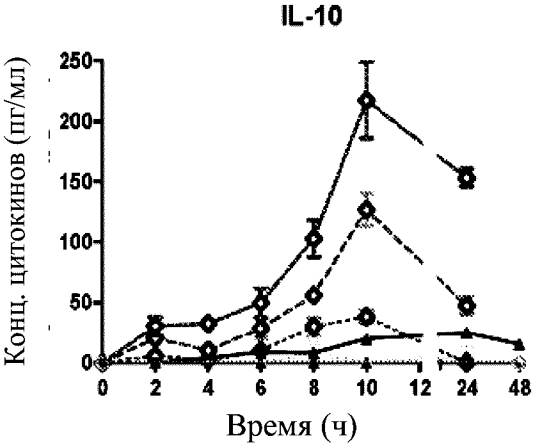
Фиг. 71B



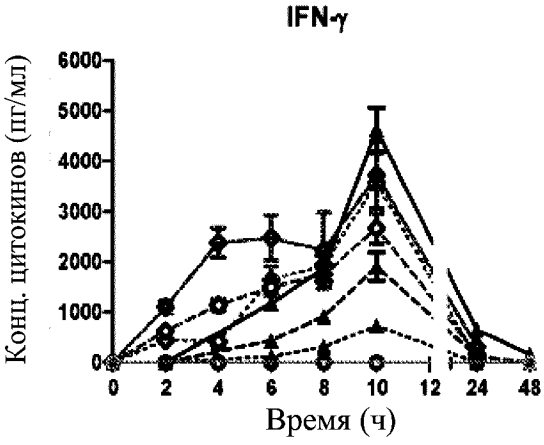
Фиг. 71C



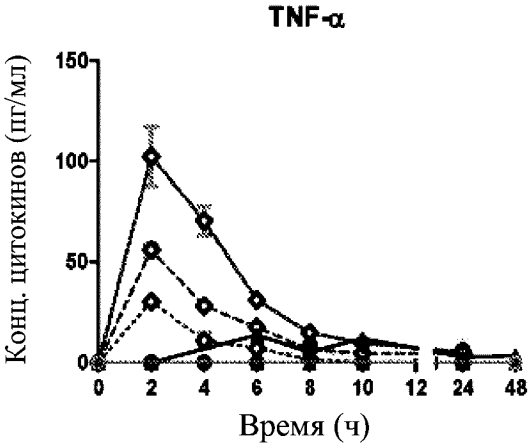
Фиг. 71D



Фиг. 71E

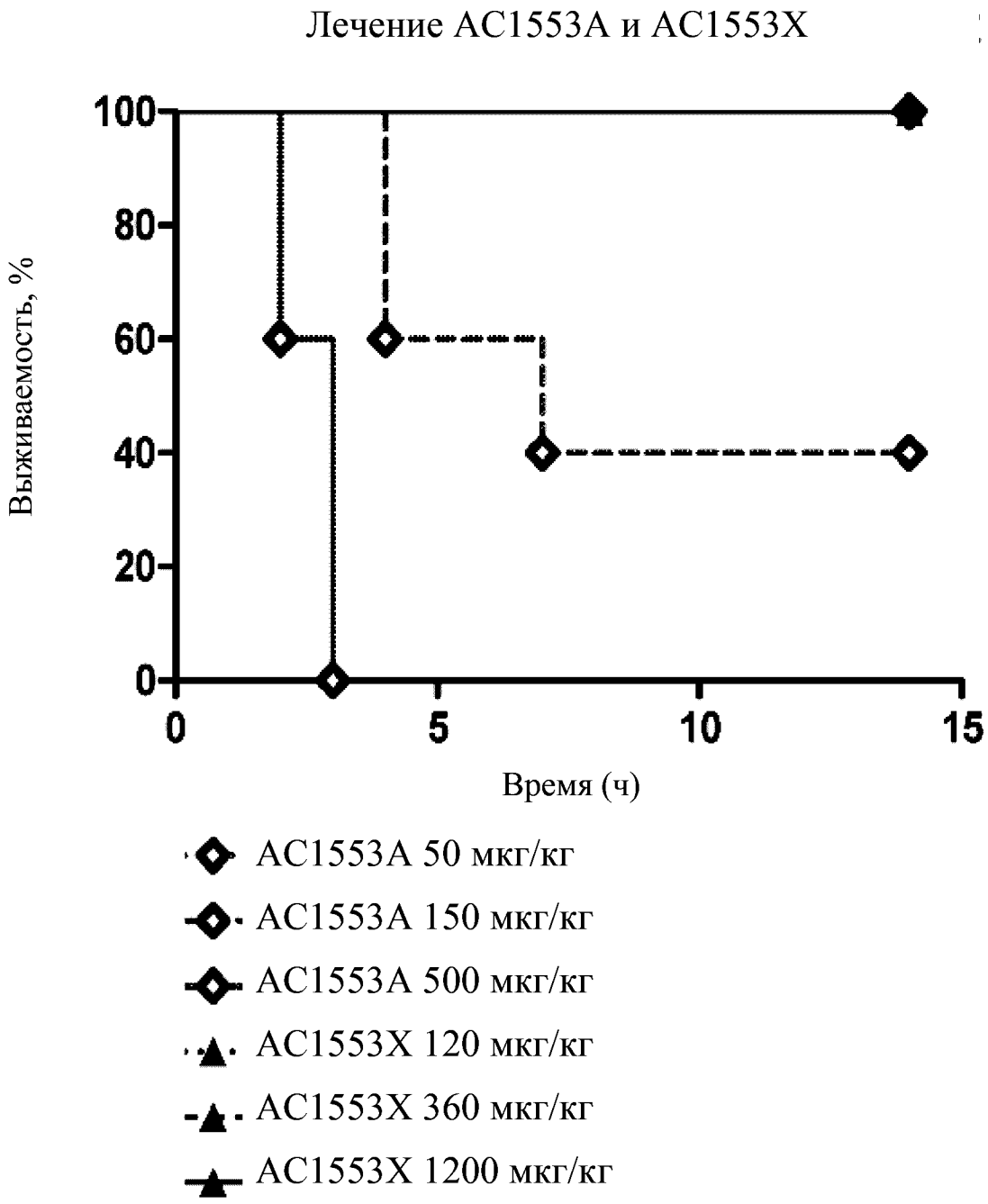


Фиг. 71F



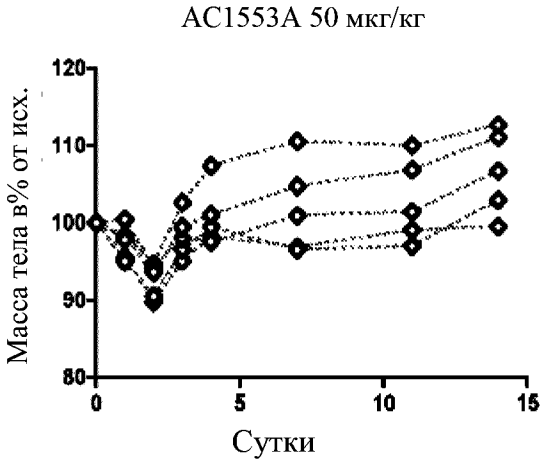
Контроль AC1476A 500 мкг/кг
AC1553A 50 мкг/кг
AC1553A 150 мкг/кг
AC1553A 500 мкг/кг
AC1553X 120 мкг/кг
AC1553X 360 мкг/кг
AC1553X 1200 мкг/кг

Фиг. 71

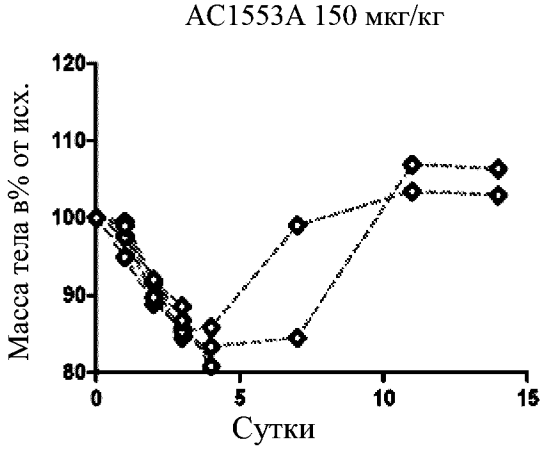

Лечение AC1553A и AC1553X
Выживаемость, %
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
Время (ч)
AC1553A 50 мкг/кг
AC1553A 150 мкг/кг
AC1553A 500 мкг/кг
AC1553X 120 мкг/кг
AC1553X 360 мкг/кг
AC1553X 1200 мкг/кг

Фиг. 72

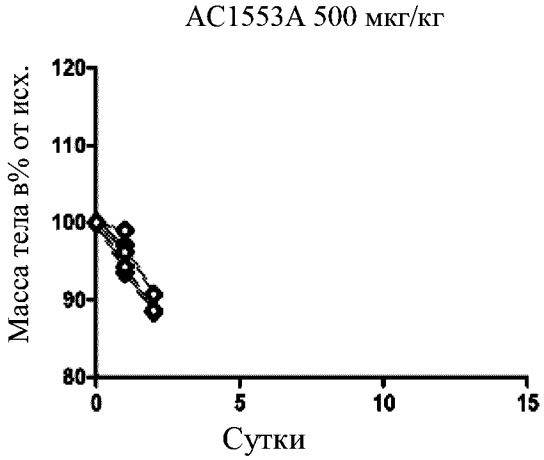
Фиг. 73A



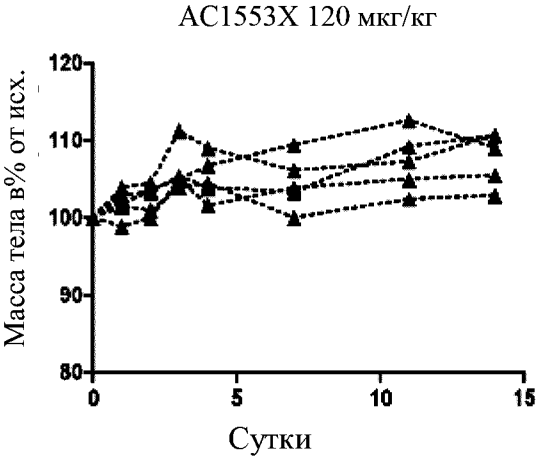
Фиг. 73B



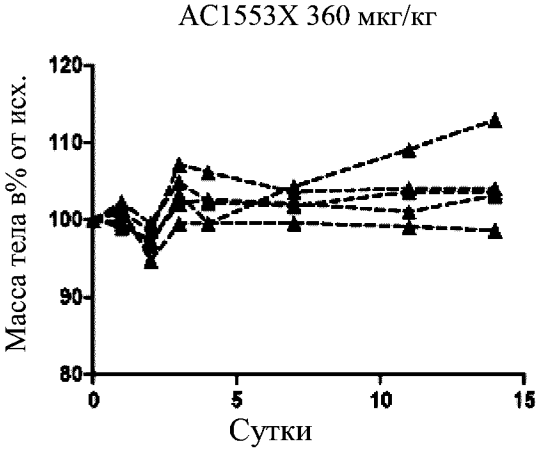
Фиг. 73C



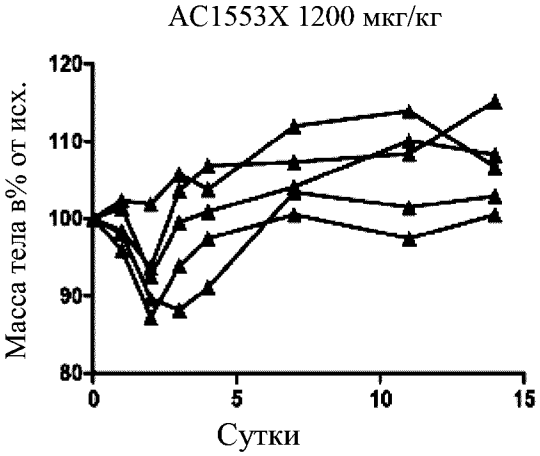
Фиг. 73D



Фиг. 73E

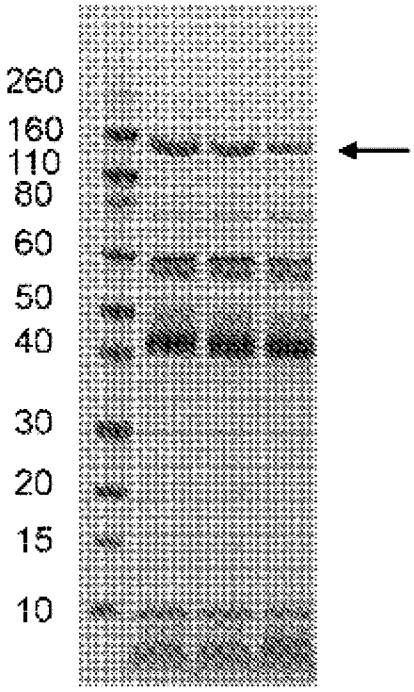


Фиг. 73F

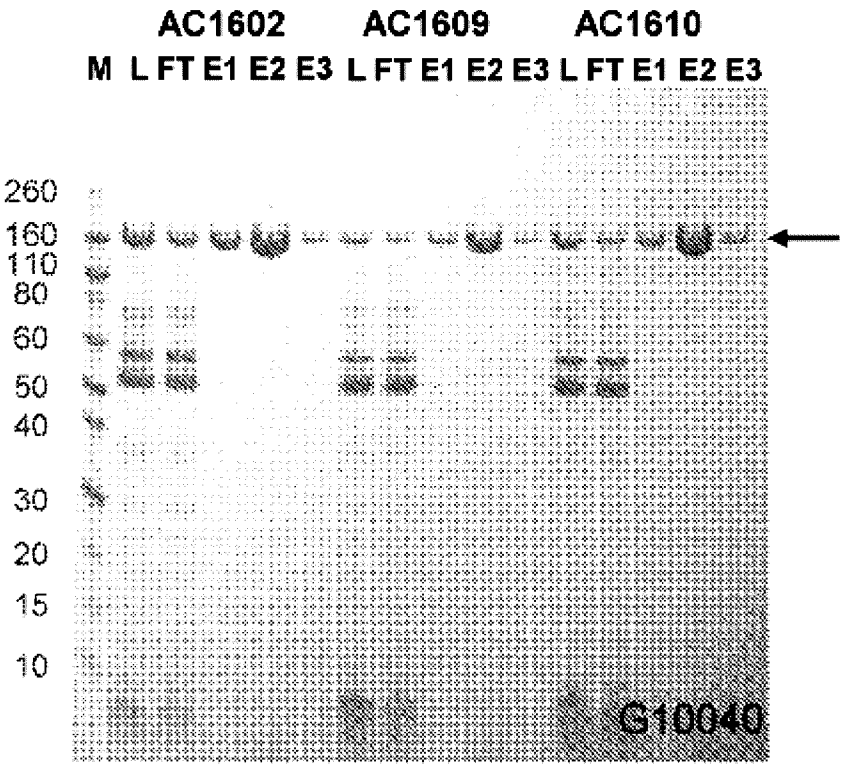


Фиг. 73

Фиг. 74A

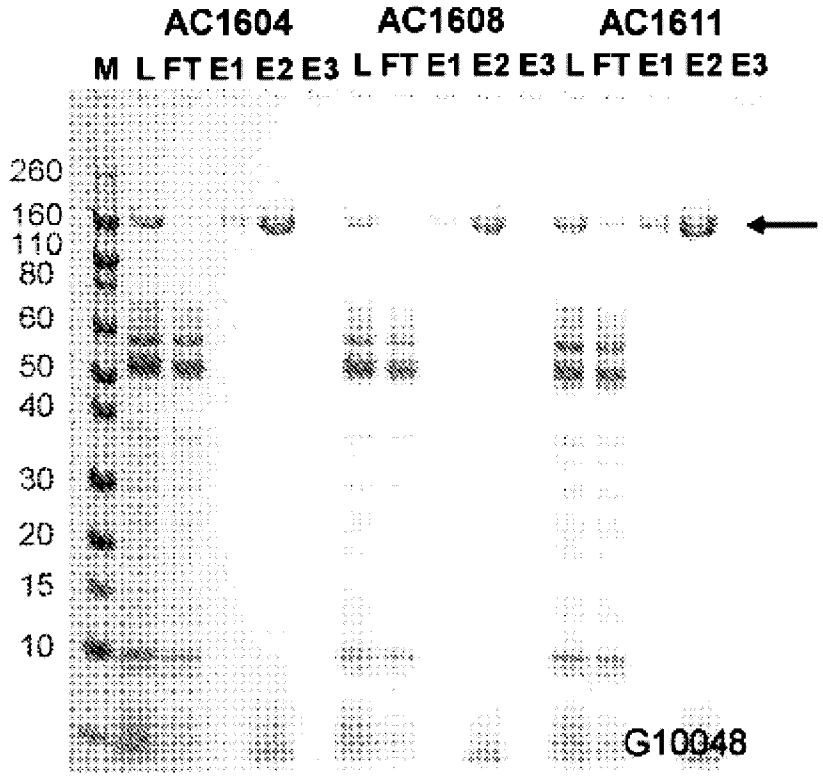


Фиг. 74B

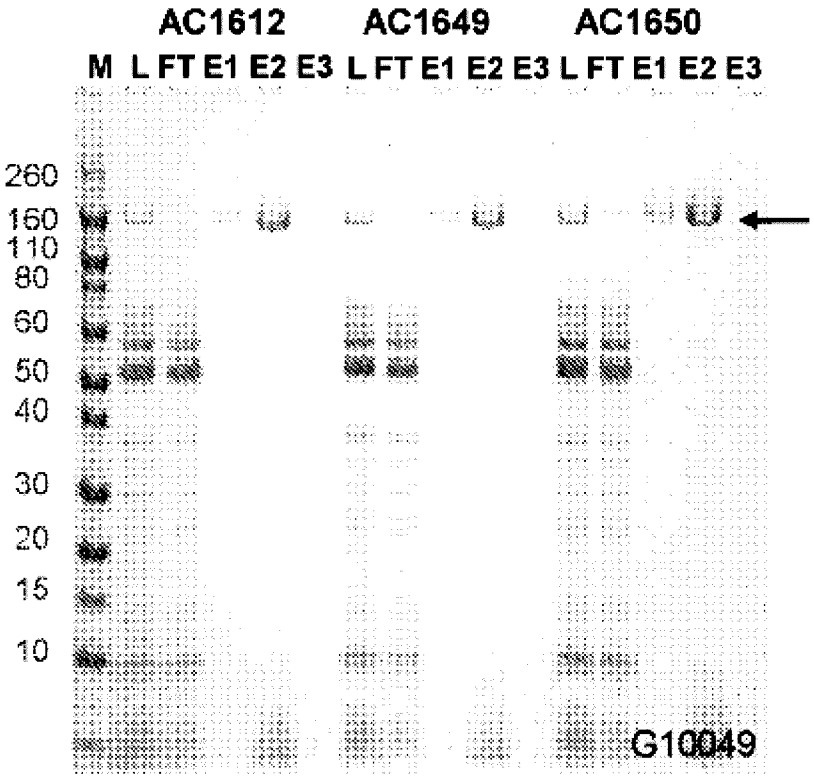


Фиг. 74

Фиг. 74C

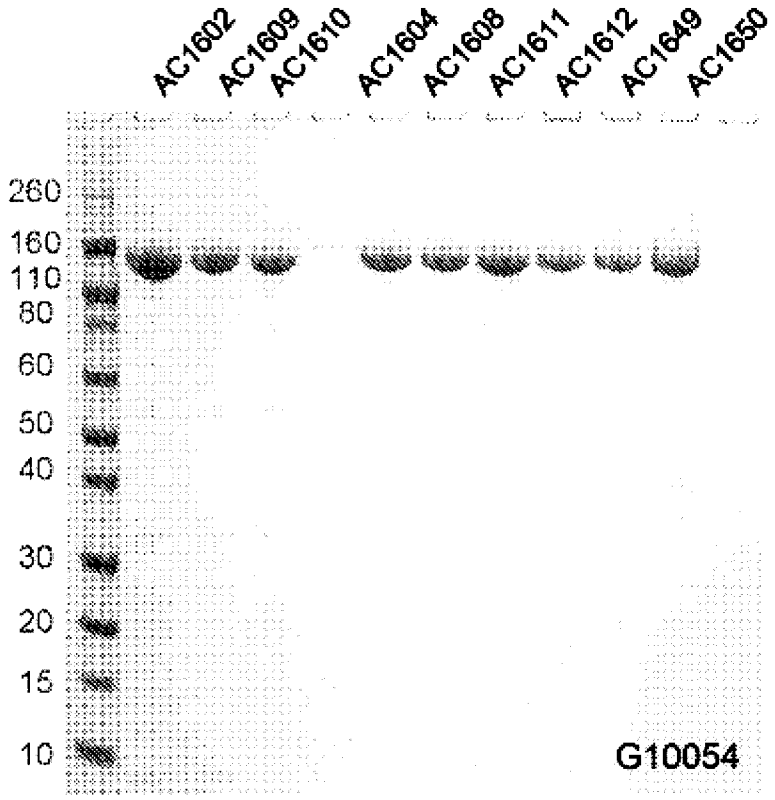


Фиг. 74D

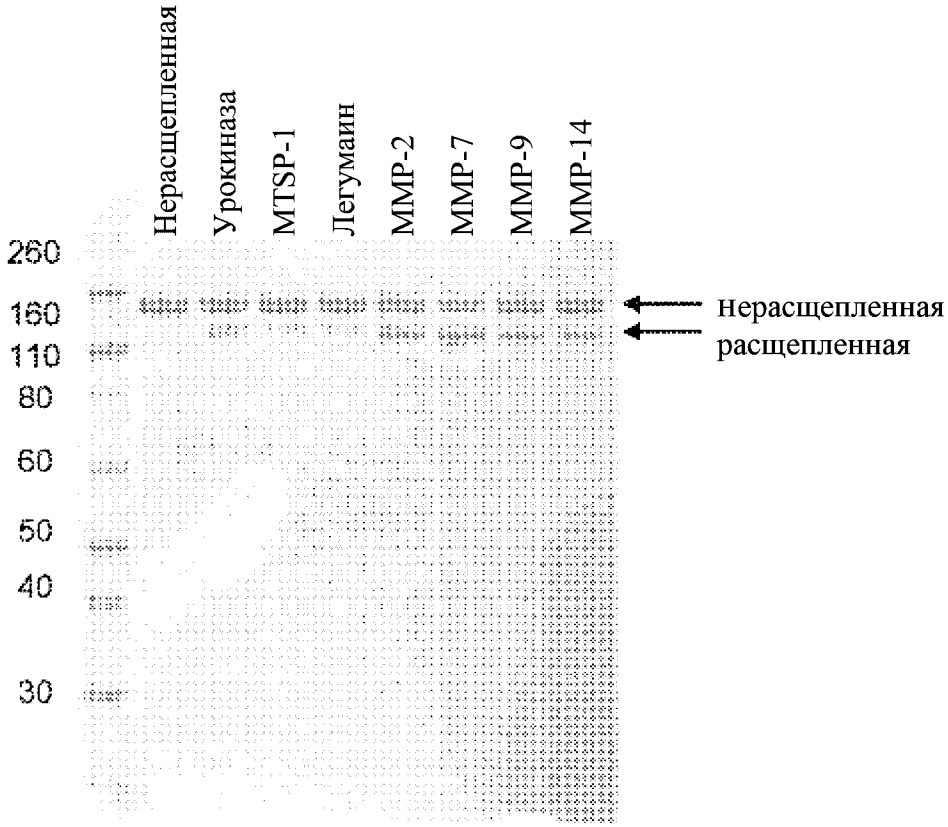


Фиг. 74

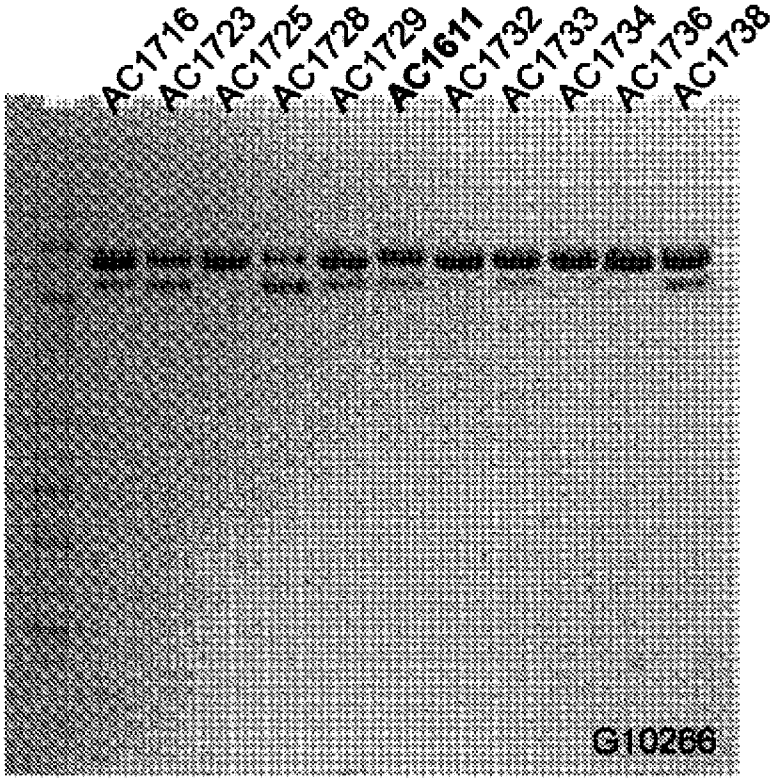
Фиг. 74E



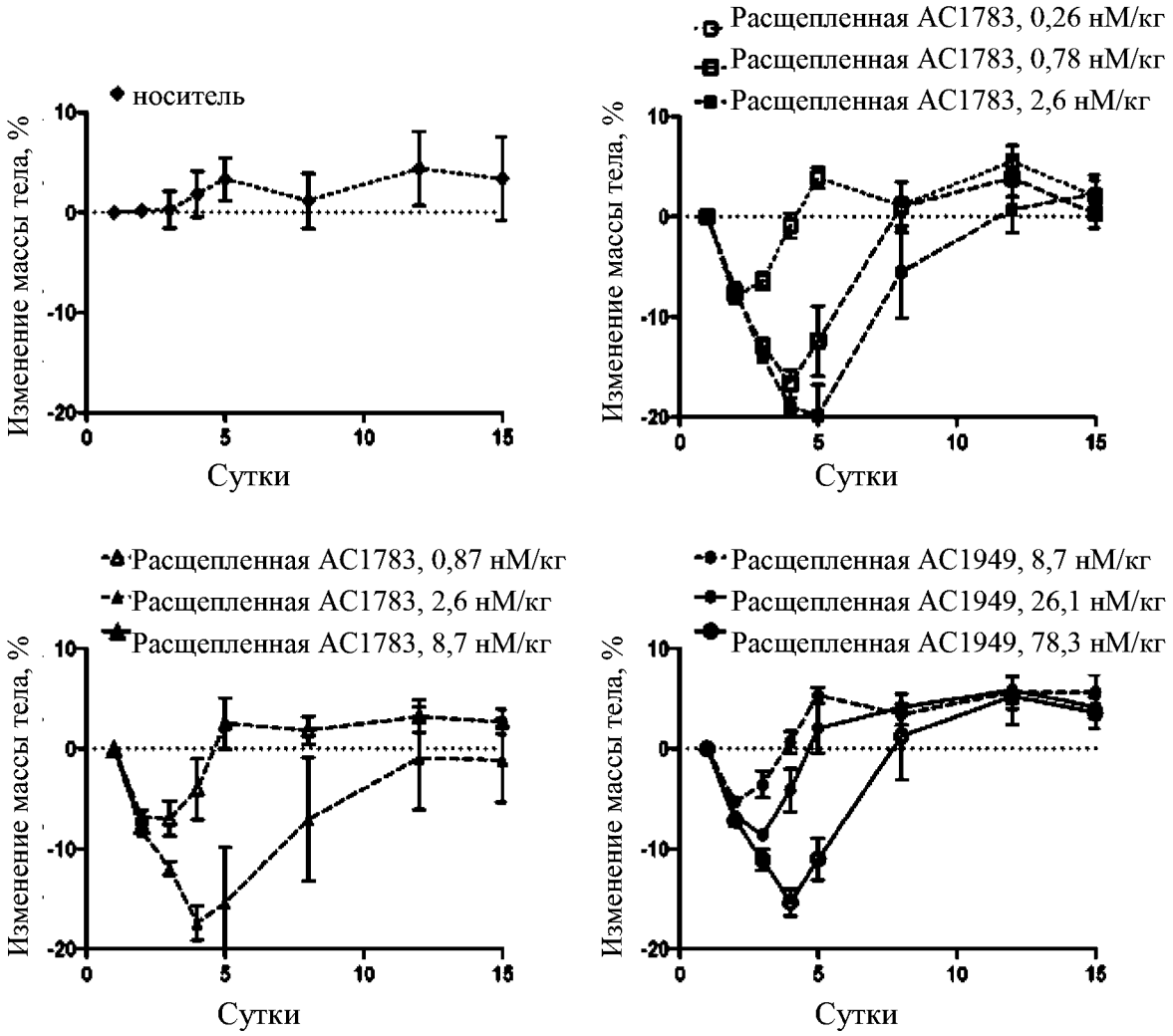
Фиг. 74


Нерасщепленная
Урокиназа
MTSP-1
Легумаин
MMP-2
MMP-7
MMP-9
MMP-14
260
160
110
80
60
50
40
30
Нерасщепленная
расщепленная

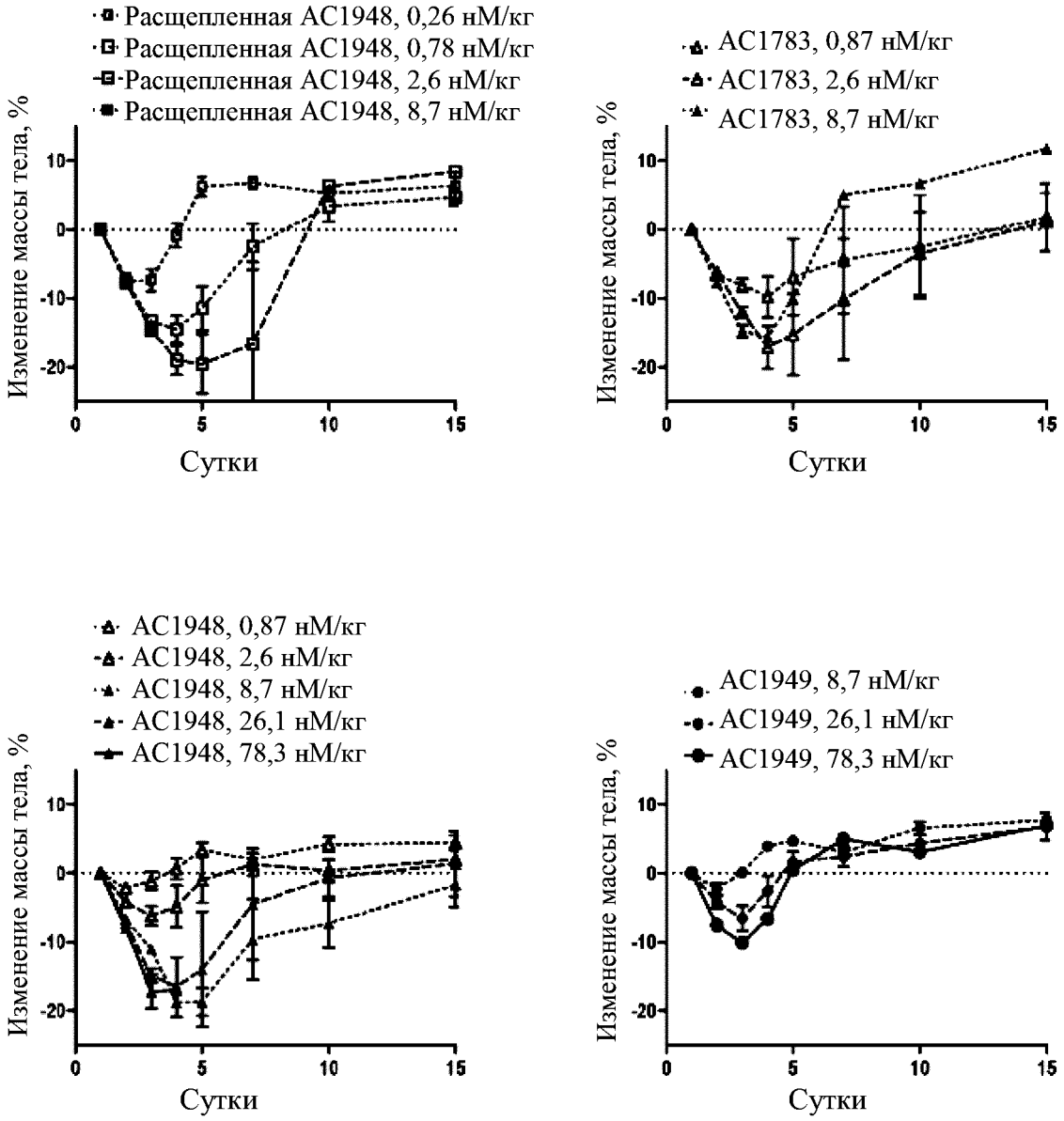
Фиг. 75


AC1716
AC1723
AC1725
AC1728
AC1729
AC1611
AC1732
AC1733
AC1734
AC1736
AC1738
G10266

Фиг. 76

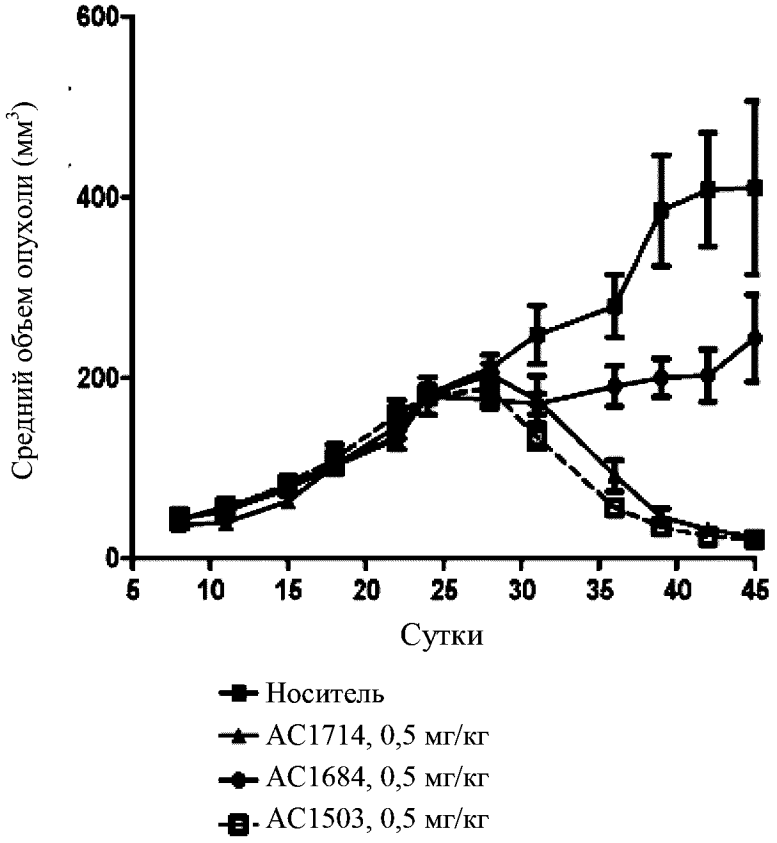

носитель
Изменение массы тела, %
Сутки
Расщепленная AC1783, 0,26 нМ/кг
Расщепленная AC1783, 0,78 нМ/кг
Расщепленная AC1783, 2,6 нМ/кг
Расщепленная AC1783, 0,87 нМ/кг
Расщепленная AC1783, 2,6 нМ/кг
Расщепленная AC1783, 8,7 нМ/кг
Расщепленная AC1949, 8,7 нМ/кг
Расщепленная AC1949, 26,1 нМ/кг
Расщепленная AC1949, 78,3 нМ/кг

Фиг. 77

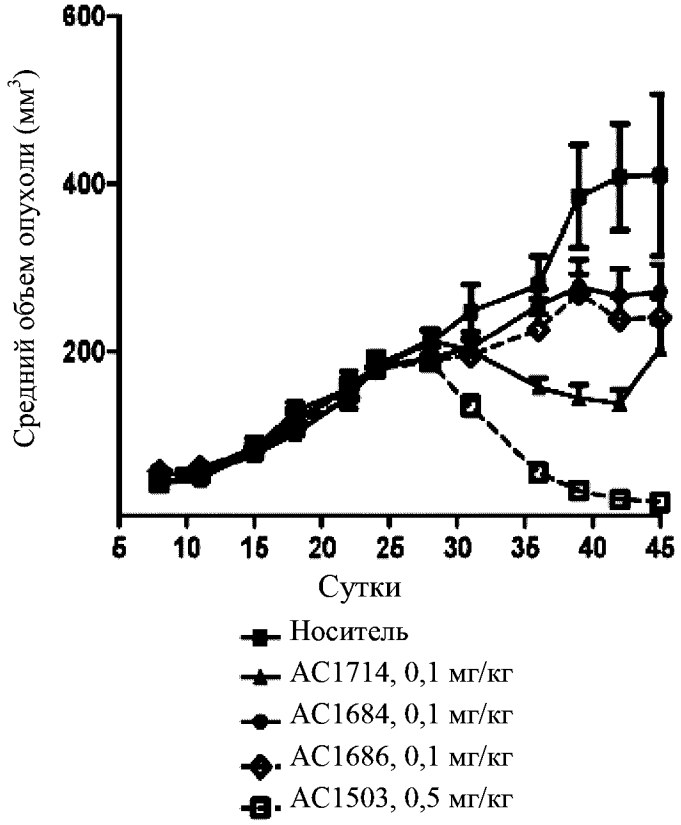

Расщепленная AC1948, 0,26 нМ/кг
Расщепленная AC1948, 0,78 нМ/кг
Расщепленная AC1948, 2,6 нМ/кг
Расщепленная AC1948, 8,7 нМ/кг
Изменение массы тела, %
Сутки
AC1783, 0,87 нМ/кг
AC1783, 2,6 нМ/кг
AC1783, 8,7 нМ/кг
Изменение массы тела, %
Сутки
AC1948, 0,87 нМ/кг
AC1948, 2,6 нМ/кг
AC1948, 8,7 нМ/кг
AC1948, 26,1 нМ/кг
AC1948, 78,3 нМ/кг
Изменение массы тела, %
Сутки
AC1949, 8,7 нМ/кг
AC1949, 26,1 нМ/кг
AC1949, 78,3 нМ/кг
Изменение массы тела, %
Сутки

Фиг. 78

Фиг. 79A

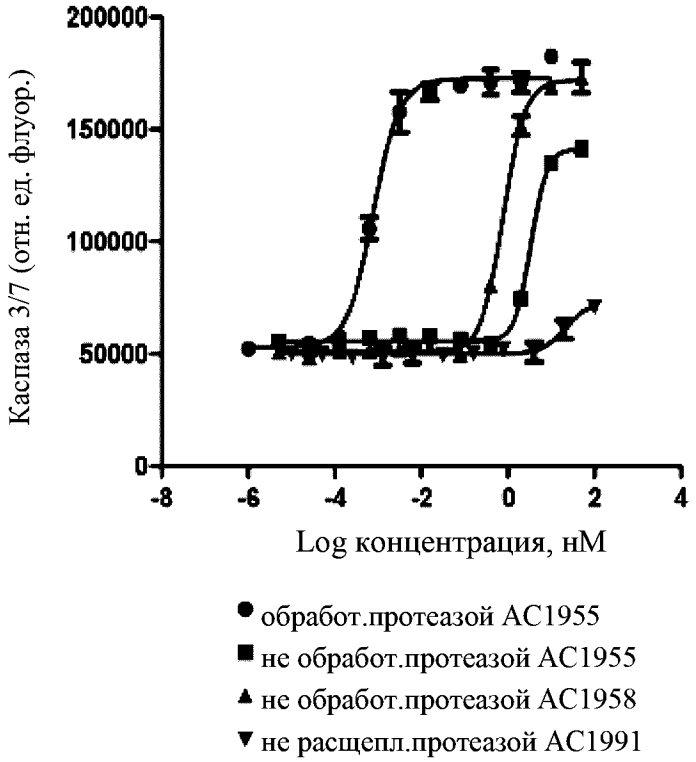


Фиг. 79B

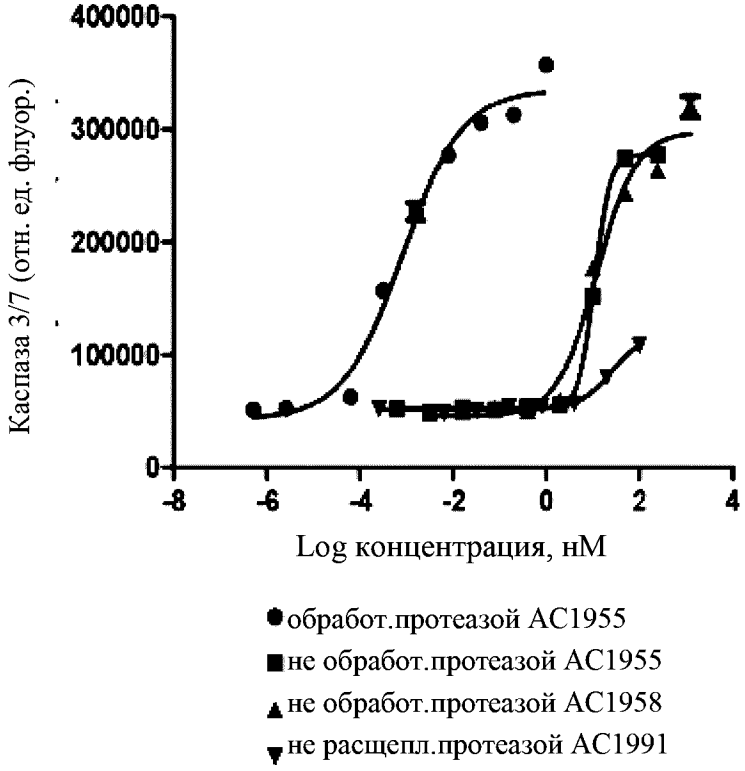


Фиг. 79

Фиг. 80A

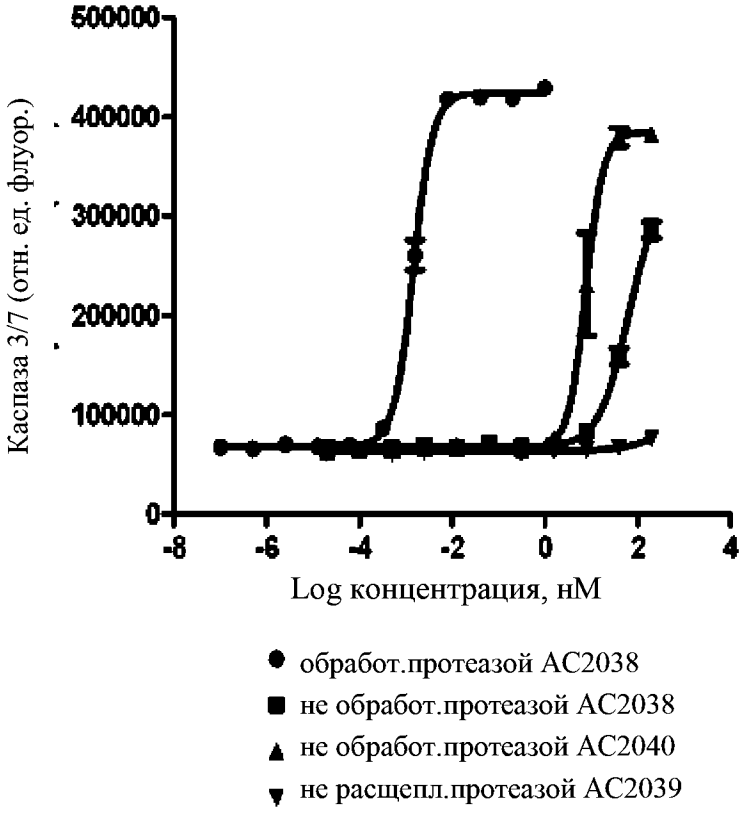


Фиг. 80B

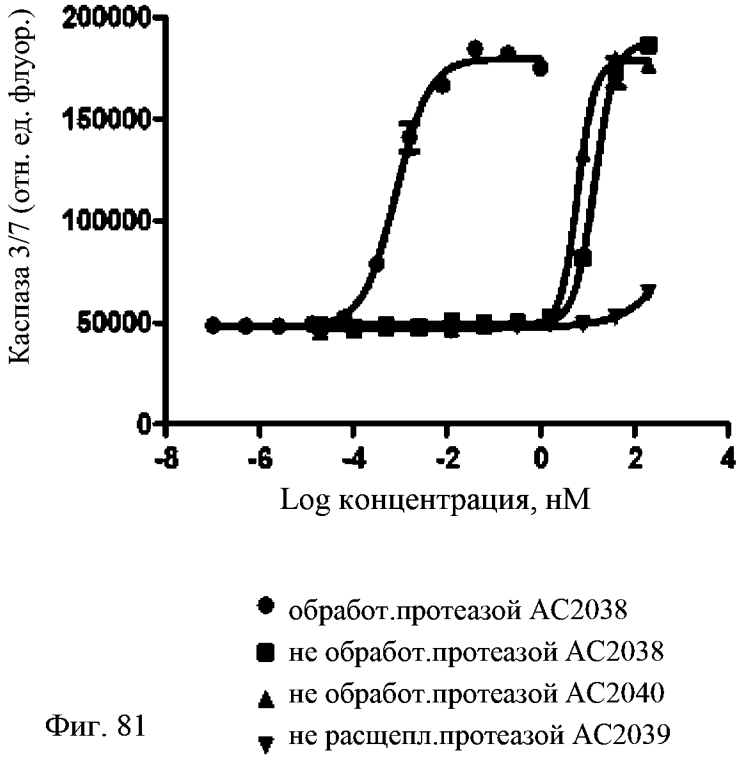


Фиг. 80

Фиг. 81A

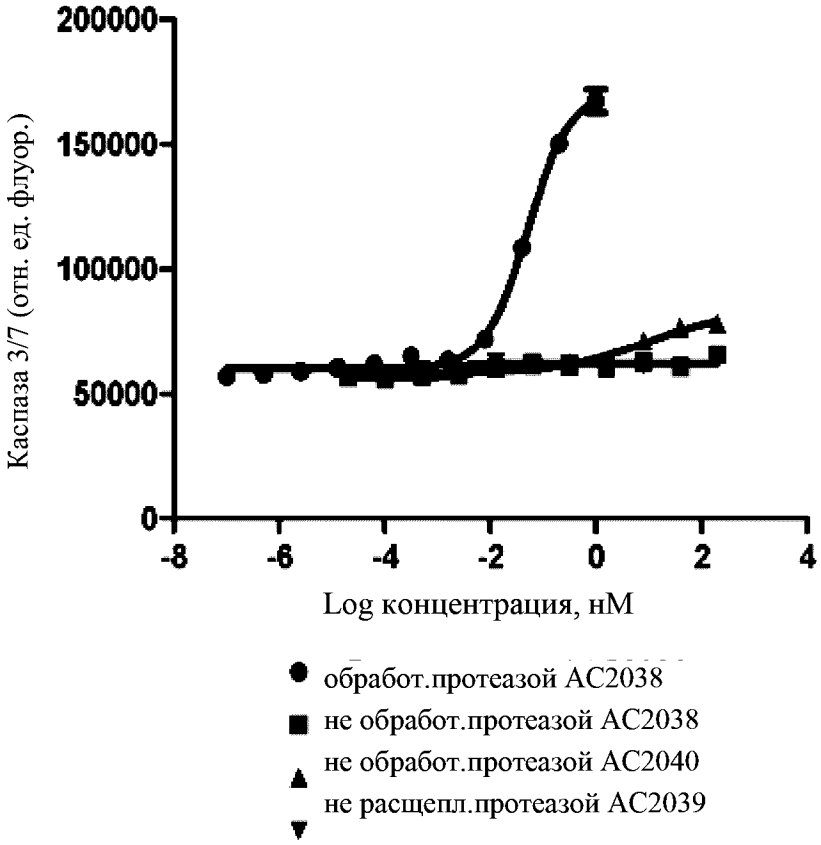


Фиг. 81B

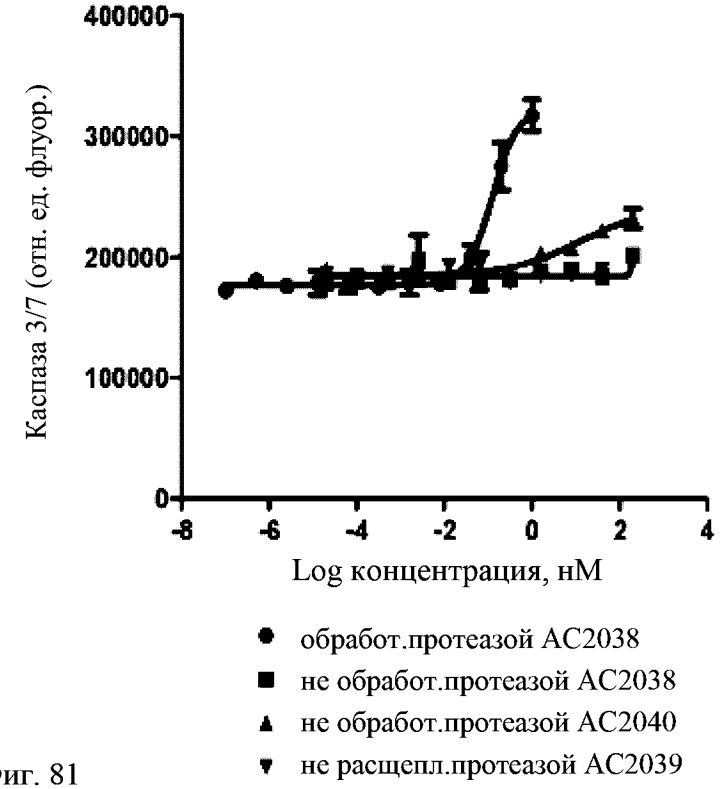


Фиг. 81

Фиг. 81C

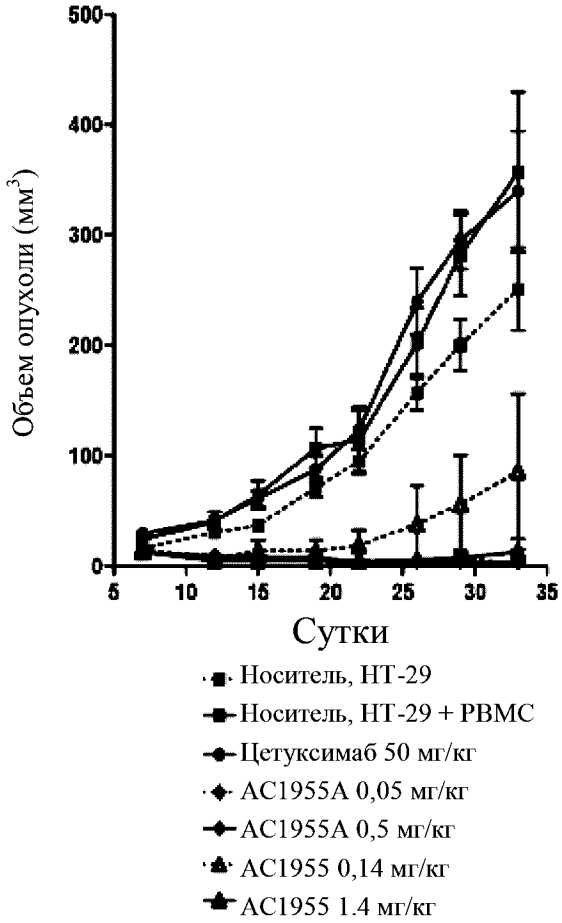


Фиг. 81D

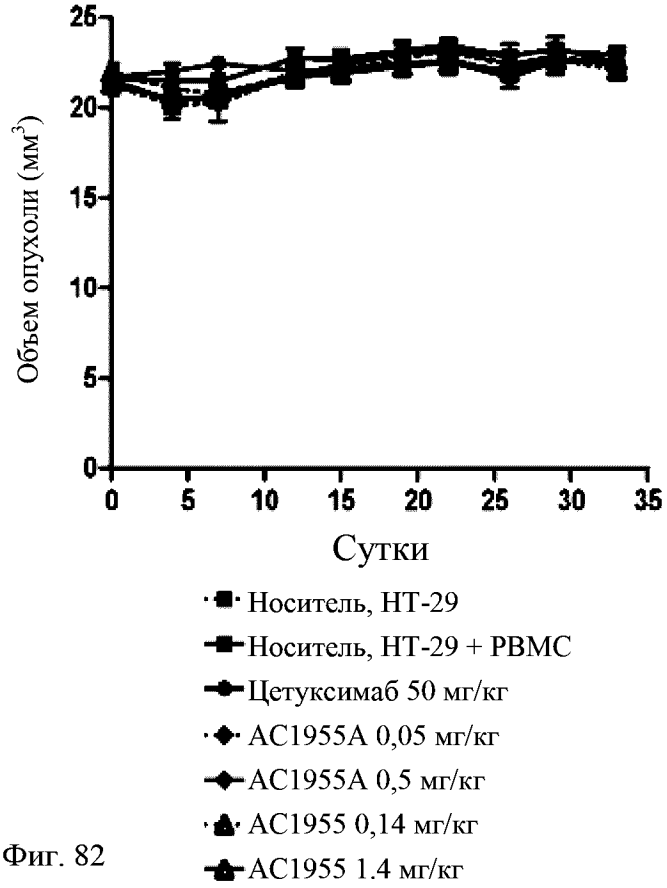


Фиг. 81

Фиг. 82A

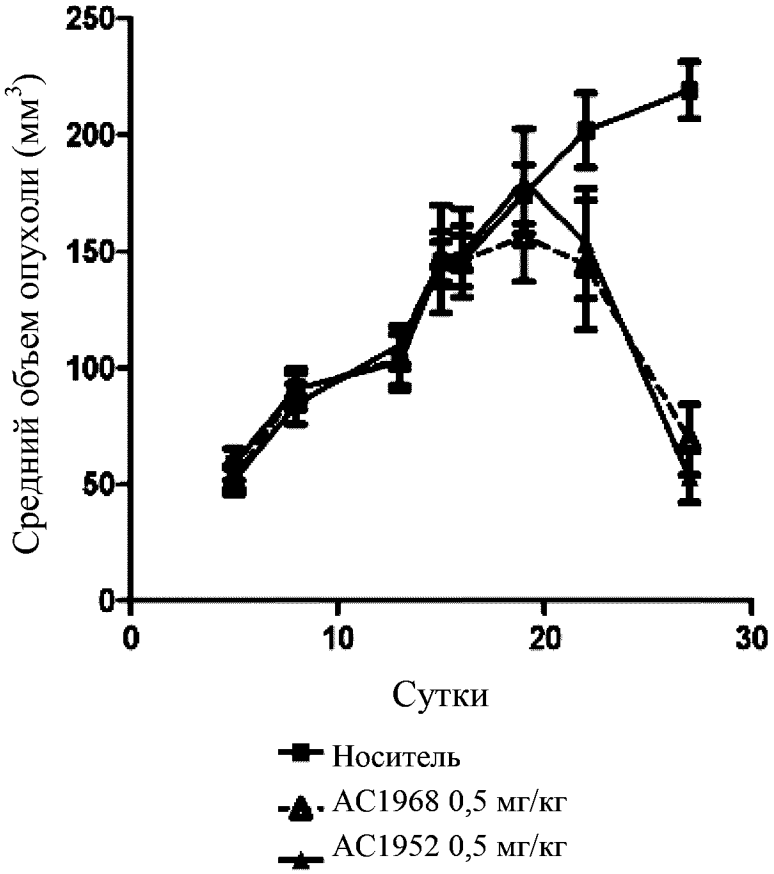


Фиг. 82B

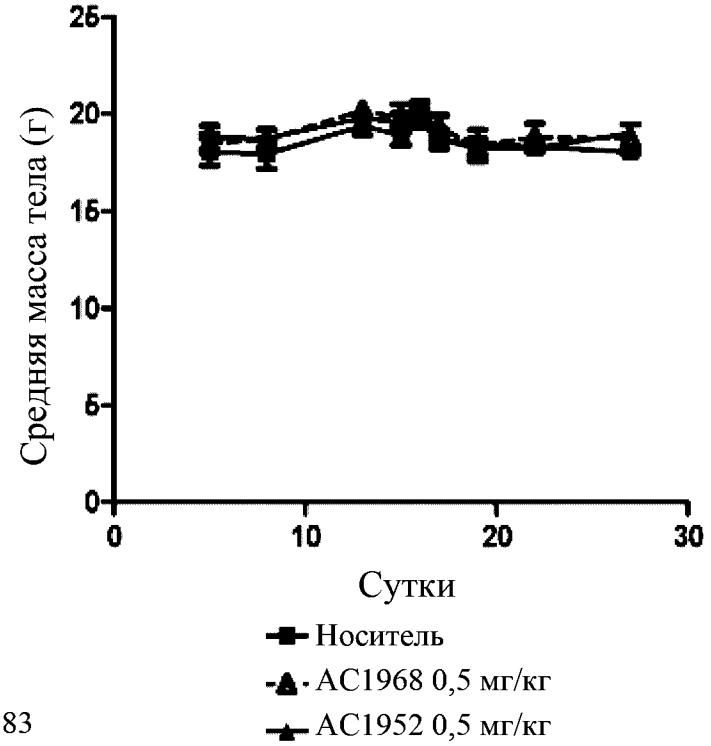


Фиг. 82

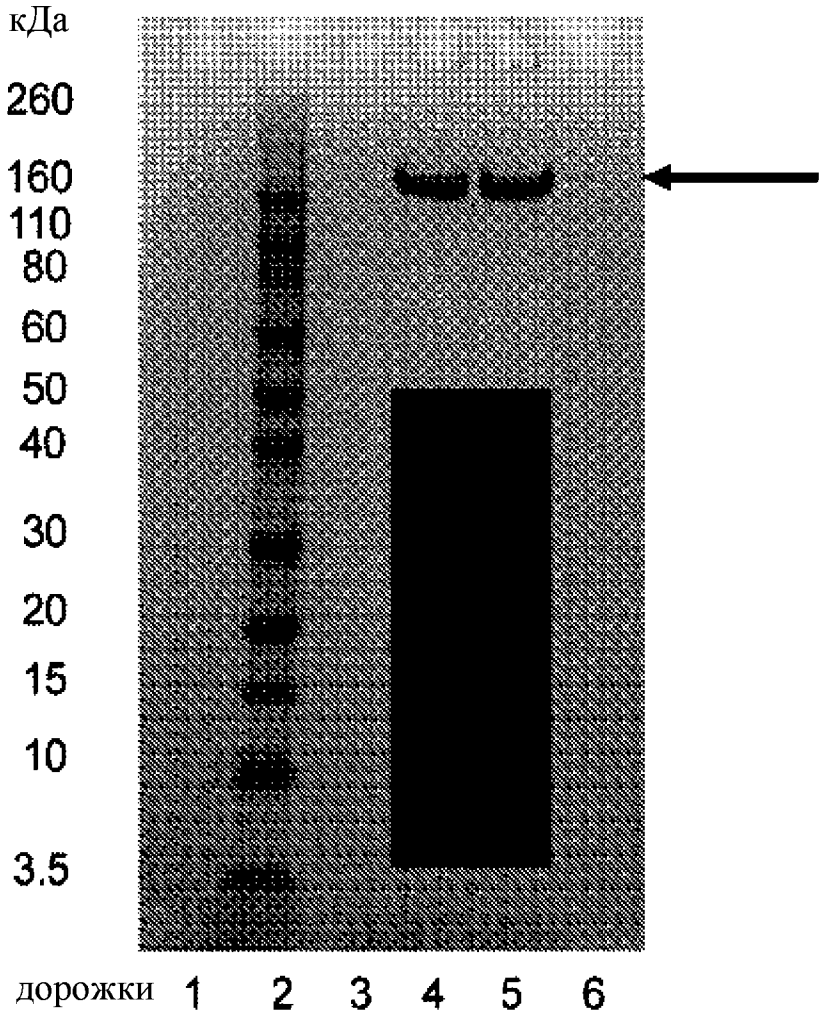
Фиг. 83A



Фиг. 83B

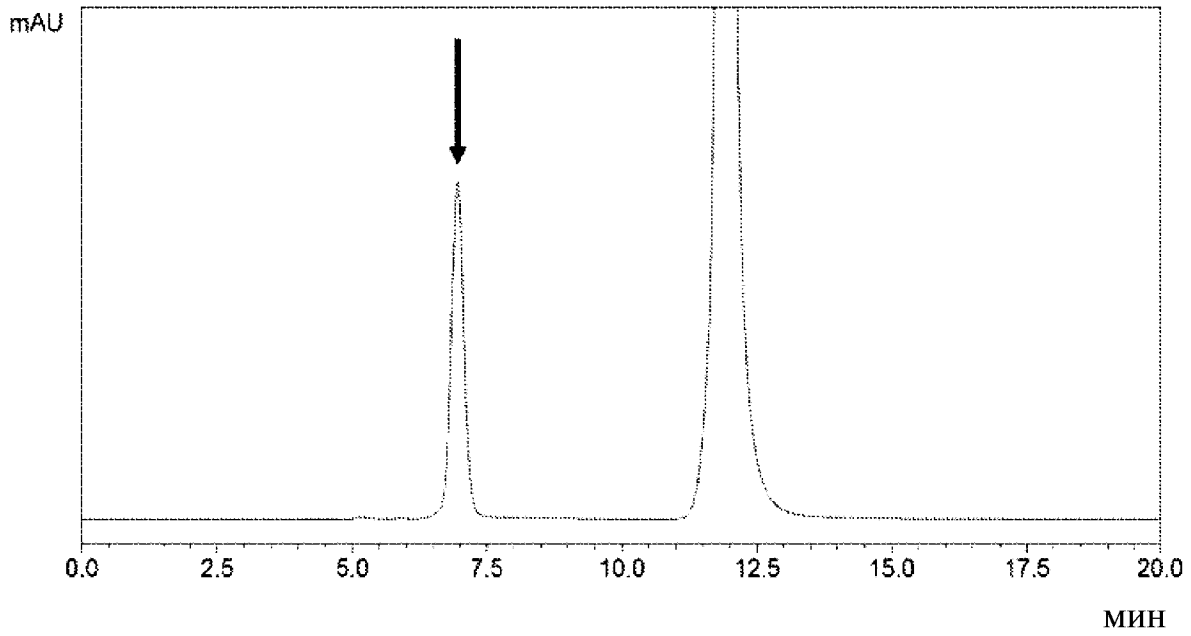


Фиг. 83

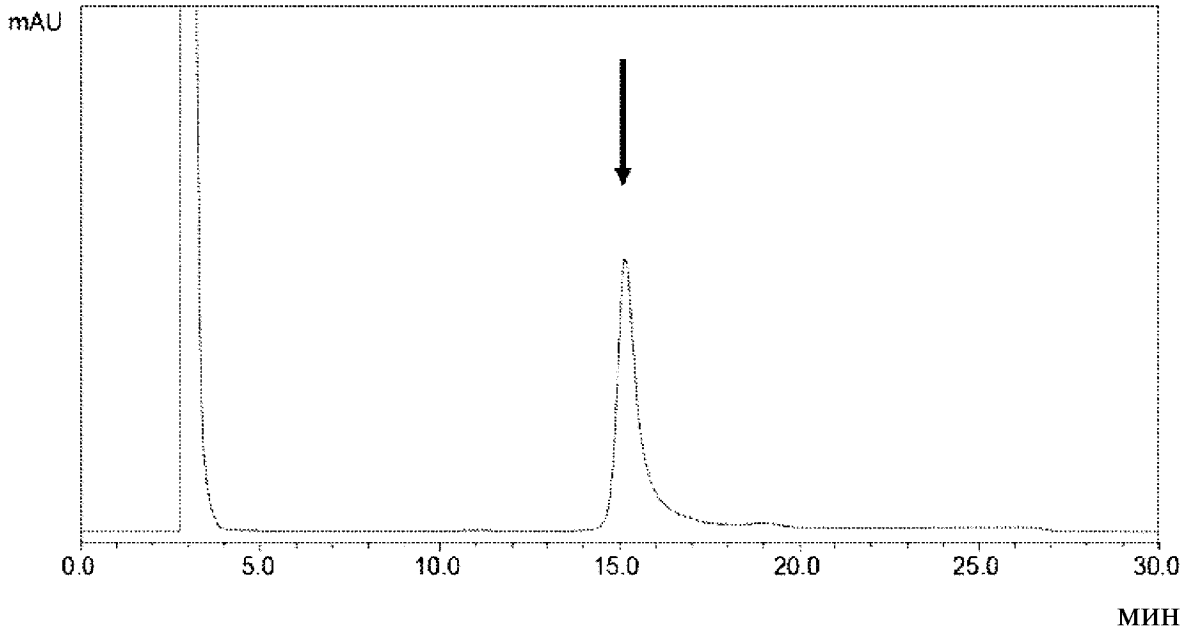


Фиг. 84

Фиг. 85A

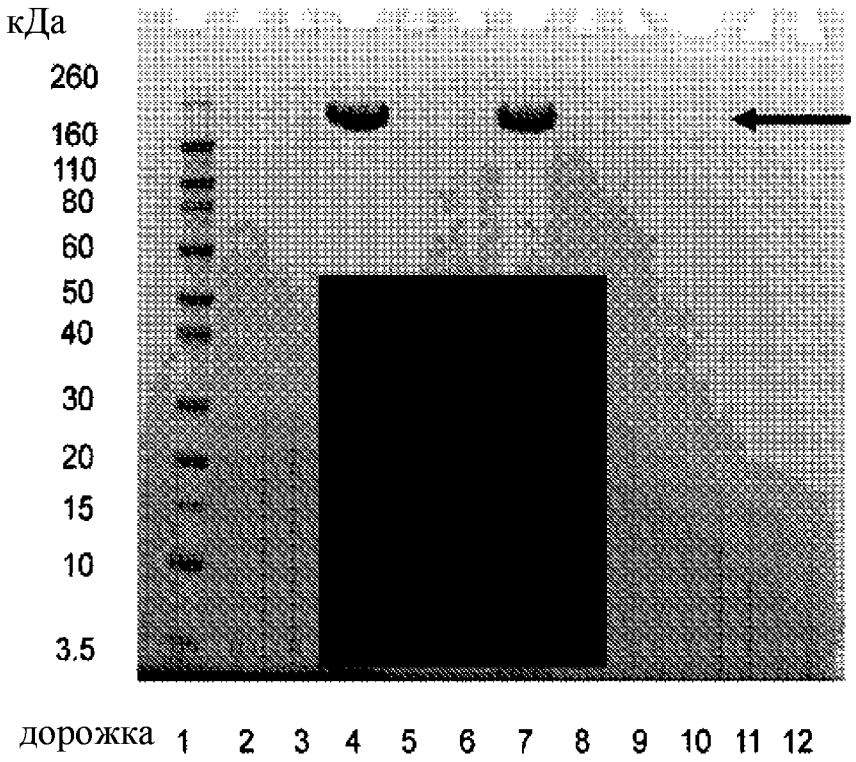


Фиг. 85B

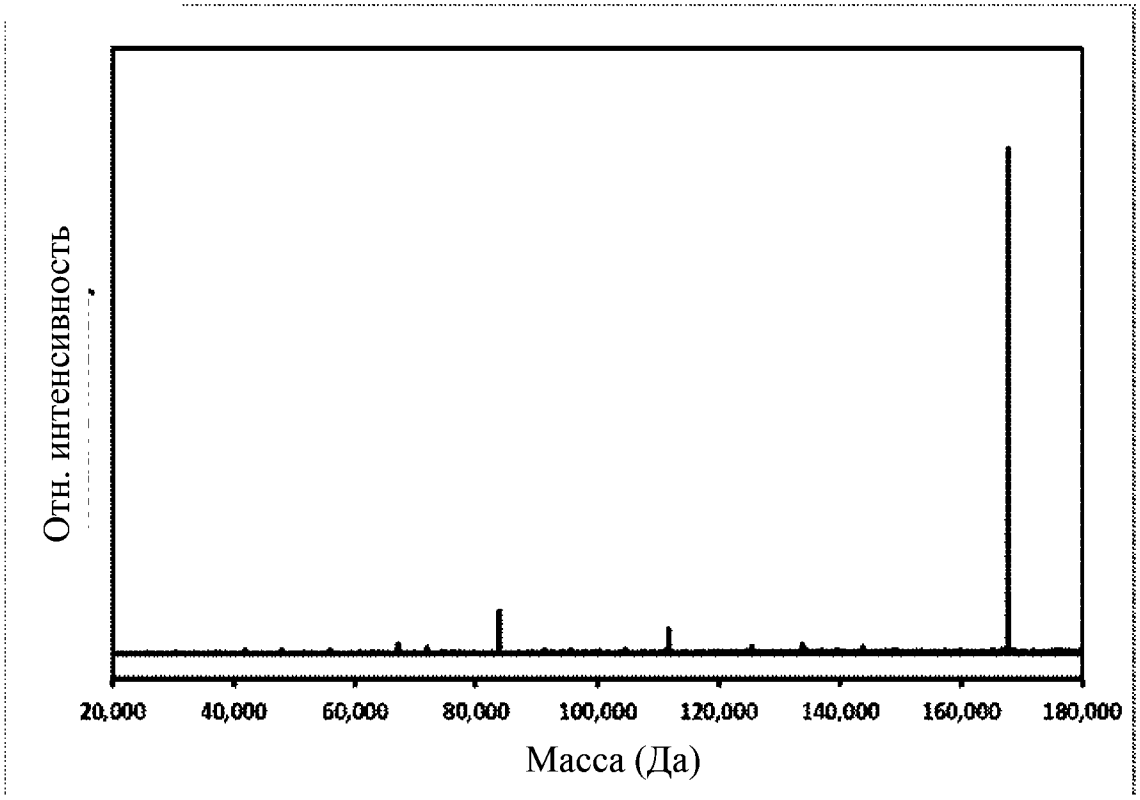


Фиг. 85

Фиг. 86А

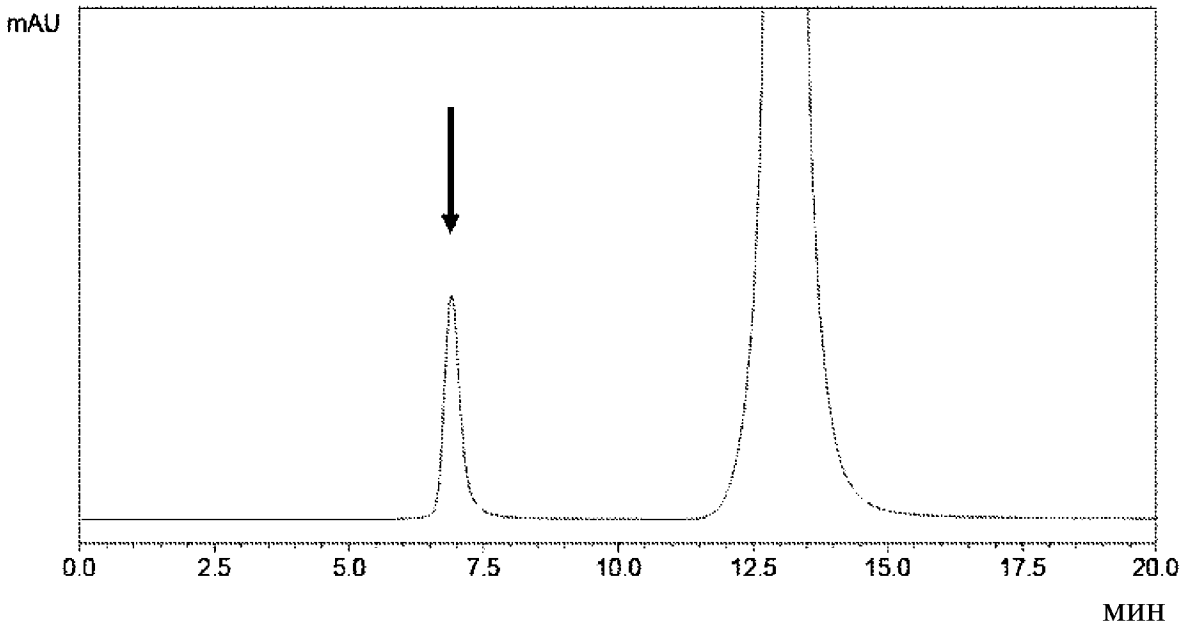


Фиг. 86В

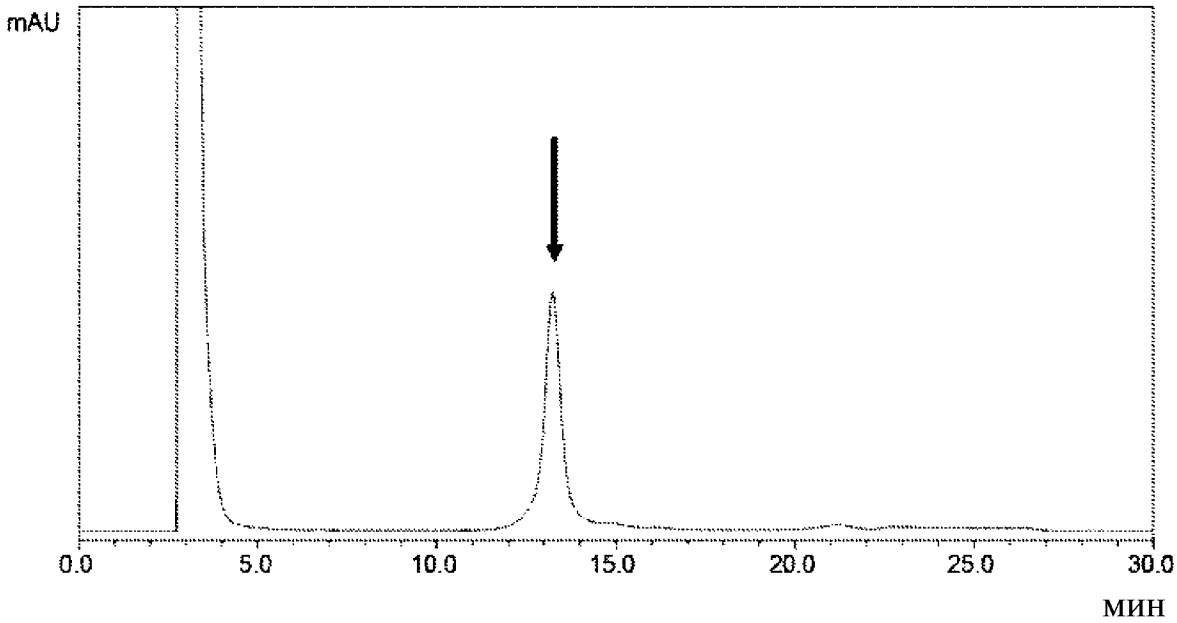


Фиг. 86

Фиг. 87A



Фиг. 87B



Фиг. 87