

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202091669** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.12.04

(22) Дата подачи заявки
2019.01.10

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) ПОЛИПЕПТИДЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТРАНСФЕРРИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **62/615,914; 62/631,281; 62/682,639;
62/721,275**

(32) **2018.01.10; 2018.02.15; 2018.06.08;
2018.08.22**

(33) **US**

(86) **PCT/US2019/012990**

(87) **WO 2019/140050 2019.07.18**

(71) Заявитель:

ДЕНАЛИ ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Деннис Марк С., Кариолис Михалис,
Кван Ванда, Сильверман Адам П.,
Свини Захари К., Дзукеро Джой Ю
(US)**

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

(57) Данное изобретение в целом относится к димерам полипептида Fc, которые содержат ненативный сайт связывания с трансферриновым рецептором (TfR), по существу, не деплетируют ретикулоциты *in vivo*, но сохраняют связывание с рецептором Fcg (FcgR). Данное изобретение также относится к димеру полипептида Fc, который содержит ненативный сайт, который специфически связывает TfR с одним из полипептидов Fc; также относится к модификации или модификациям полипептида Fc, содержащего TfR-связывающий сайт, которые уменьшают связывание FcgR при связывании с TfR, при этом другой полипептид Fc не содержит TfR-связывающего сайта, но сохраняет связывание FcgR.

A1

202091669

202091669

A1

ПОЛИПЕПТИДЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ТРАНСФЕРРИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/615 914, поданной 10 января 2018 года, предварительной заявке на патент США № 62/631 281, поданной 15 февраля 2018 года, предварительной заявке на патент США № 62/682 639, поданной 8 июня 2018 года, и предварительной заявке на патент США № 62/721 275, поданной 22 августа 2018 года, описания которых включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки для всех целей.

Область техники

Данное изобретение относится к модифицированным димерам полипептида Fc, которые связывают трансферриновый рецептор (TfR), могут индуцировать по меньшей мере одну активность эффекторной функции (например, антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC)), но не приводят к значительному деплетированию ретикулоцитов.

Уровень техники

TfR был предложен в качестве мишени для рецептор-опосредованного трансцитоза терапевтических средств через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Хотя TfR экспрессируется на эндотелиальных клетках, которые образуют ГЭБ, TfR также экспрессируется на клетках других типов, включая ретикулоциты. Предыдущая работа продемонстрировала, что антитела анти-TfR могут деплетировать ретикулоциты из системы кровообращения.

[0002] Поскольку деплетирование ретикулоцитов обусловлено активностью эффекторной функции, эту токсичность можно преодолеть путем внесения модификаций, которые уменьшают или устраняют эффекторную функцию. Этот подход, однако, исключает применение терапевтических средств, когда эффекторная функция является желательной или необходимой.

Таким образом, было бы целесообразно применять способы для доставки в головной мозг эффекторных функционально-положительных терапевтических средств, которые не вызывают деплетирование ретикулоцитов.

Сущность изобретения

Авторы разработали полипептиды Fc, которые были модифицированы для связывания с TfR. Эти полипептиды Fc способны активно транспортироваться в головной мозг посредством рецептор-опосредованного трансцитоза в результате связывания с TfR в

области ГЭБ. Поскольку полипептиды Fc способны индуцировать активность эффекторной функции, включая ADCC, посредством связывания с рецепторами Fc γ R (Fc γ R) на иммунных клетках и поскольку TfR экспрессируется на ретикулоцитах, одновременное связывание этими полипептидами с ретикулоцитами и Fc γ R может привести к деплетированию ретикулоцитов. Хотя эффекторную функцию можно уменьшить или устранить путем введения мутаций в полипептид Fc, это является нежелательным при некоторых терапевтических применениях.

Данное изобретение основано на разработке модифицированных димеров полипептида Fc, которые связывают TfR, проникают через ГЭБ и сохраняют активность эффекторной функции, но не вызывают существенной TfR-зависимой токсичности, включая деплетирование ретикулоцитов. Такие димеры могут быть сконструированы, как описано в данном документе.

В одном аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc или его димерному фрагменту, который: (a) содержит TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR; (b) способен связывать рецептор Fc γ R (Fc γ R); и (c) существенно не деплетирует ретикулоциты *in vivo*.

В одном аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc или его димерному фрагменту, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий (i) TfR-связывающий сайт и (ii) одну или большее количество аминокислотных модификаций, которые уменьшают связывание Fc γ R, например, при связывании с TfR (например, но характеризуется ограниченным или полным отсутствием связывания Fc γ R, когда не происходит связывание с TfR); и (b) второй полипептид Fc, который не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание Fc γ R.

[0003] В некоторых вариантах осуществления этого аспекта TfR-связывающий сайт содержит модифицированный домен СН3. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СН3 происходит от домена СН3 человека IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СН3 содержит пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, согласно нумерации EU. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СН3 дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный димер полипептида Fc связывается с апикальным доменом TfR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный димер полипептида Fc связывается с TfR без ингибирования связывания трансферрина с TfR. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный димер полипептида Fc связывается с эпитопом, который содержит аминокислоту 208 TfR.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит Trp в положении 388. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит ароматическую аминокислоту в положении 421. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанная ароматическая аминокислота в положении 421 представляет собой Trp или Phe.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта указанный модифицированный домен СНЗ содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 384, представляющего собой Leu, Tyr, Met или Val; положения 386, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 387, представляющего собой Val, Pro или кислотную аминокислоту; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 413, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 416, представляющего собой Thr или кислотную аминокислоту; и положения 421, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта указанный модифицированный домен СНЗ содержит две, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 384, представляющего собой Leu, Tyr, Met или Val; положения 386, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 387, представляющего собой Val, Pro или кислотную аминокислоту; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 413, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 416, представляющего собой Thr или кислотную аминокислоту; и положения 421, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта указанный модифицированный домен СНЗ содержит Leu или Met в положении 384; Leu, His или Pro в положении 386; Val в положении 387; Trp в положении 388; Val или Ala в положении 389; Pro в положении 413; Thr в положении 416; и/или Trp в положении 421.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Gln, Phe или His в положении 392. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Gln в положении 392.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранных из следующих положений: положения 414, представляющего собой Lys, Arg, Gly или Pro; положения 424, представляющего собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положения 426, представляющего собой Ser, Trp или Gly.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu или Val в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser или Thr в положении 413, Glu в положении 416 и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Glu в положении 415. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Glu в положении 415. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит Asn в положении 390.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит одну или большее количество из следующих замен: Trp в положении 380; Thr в положении 386; Trp в положении 388; Val в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 415; и/или Phe в положении 421.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 4-29 и 64-127. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270.

В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 111-217 SEQ ID NO: 1 при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, согласно нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит аминокислоты 154-160 и/или 183-191 любой из SEQ ID NO: 4-29 и 125-127.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 380, представляющего собой Trp, Leu или Glu; положения 384, представляющего собой Tyr или Phe; положения 386, представляющего собой Thr; положения 387, представляющего собой Glu; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 390, представляющего собой Ser или Asn; положения 413, представляющего собой Thr или Ser; положения 415, представляющего собой Glu или Ser; положения 416, представляющего собой Glu; и положения 421, представляющего собой Phe. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующих: положения 380, представляющего собой Trp, Leu или Glu; положения 384, представляющего собой Tyr или Phe; положения 386, представляющего собой Thr; положения 387, представляющего собой Glu; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 390, представляющего собой Ser или Asn; положения 413, представляющего собой Thr или Ser; положения 415, представляющего собой Glu или Ser; положения 416, представляющего собой Glu; и положения 421, представляющего собой Phe.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит 11 положений, как указано ниже: положение 380, представляющее собой Trp, Leu или Glu; положение 384, представляющее собой Tyr или Phe; положение 386, представляющее собой Thr; положение 387, представляющее собой Glu; положение 388, представляющее собой Trp; положение 389, представляющее собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390, представляющее собой Ser или Asn; положение 413, представляющее собой Thr или Ser; положение 415, представляющее собой Glu или Ser; положение 416, представляющее собой Glu; и положение 421, представляющее собой Phe.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 4-29 и 64-127. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения остатки по меньшей мере в 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 из положений соответствуют положениям 380, 384, 386, 384, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 и 426, согласно схеме нумерации EU, не удаляют и не заменяют.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 38-61 и 131-173.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит (i) Trp в положении 366 или (ii) Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407, согласно схеме нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта соответствующий немодифицированный домен СНЗ представляет собой домен СНЗ IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR, например, при связывании с TfR, содержат Ala в положении 234 и в положении 235, согласно схеме нумерации EU. В

некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR, например, при связывании сTfR, дополнительно содержат Gly в положении 329 согласно схеме нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержат аминокислотные модификации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, период полужизни в сыворотке). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные модификации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, период полужизни в сыворотке), включают Thr в положении 252, Thr в положении 254 и Glu в положении 256, согласно схеме нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные модификации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, период полужизни в сыворотке), включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434 или (ii) Ser или Ala в положении 434, согласно схеме нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта указанный модифицированный димер полипептида Fc дополнительно слит с Fab. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc дополнительно слит с Fab.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит мутацию выступа T366W, а второй полипептид Fc содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 178, 190, 202, 214, 226, 238, 238, 252, 286, 298 и 310. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (а) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 179, 191, 203, 215, 227, 239, 275, 287, 299 и 311. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (а) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 181, 193, 205, 217, 229, 241, 277, 289, 301 и 313. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (а) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 и 386. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру

полипептида Fc, содержащему: (а) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 182, 194, 206, 218, 230, 242, 278, 290, 302 и 314. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (а) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 324, 331, 338, 345, 352, 359, 366, 373, 380 и 387. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (а) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 и 310. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 400.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 и 310. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 407.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 179, 191, 203, 215, 227, 239, 275, 287, 299 и 311. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 400.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 179, 191, 203, 215, 227, 239, 275, 287, 299 и 311. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 407.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру

полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 181, 193, 205, 217, 229, 241, 277, 289, 301 и 313. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 400.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 и 386. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 407.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 182, 194, 206, 218, 230, 242, 278, 290, 302 и 314. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй

полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 400.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 324, 331, 338, 345, 352, 359, 366, 373, 380 и 387. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 407.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A и мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W согласно схеме нумерации EU и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 и 316. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W согласно схеме нумерации EU и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 185, 197, 209, 221, 233, 245, 281, 293, 305 и 317. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит

последовательность SEQ ID NO: 391.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W согласно схеме нумерации EU и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 187, 199, 211, 223, 235, 247, 283, 295, 307 и 319. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W согласно схеме нумерации EU и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 и 389. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W согласно схеме нумерации EU и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO:

188, 200, 212, 224, 236, 248, 284, 296, 308 и 320. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W согласно схеме нумерации EU и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 327, 334, 341, 348, 355, 362, 369, 376, 383 и 390. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 и 316. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 394.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый

полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 и 316. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 404.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 185, 197, 209, 221, 233, 245, 281, 293, 305 и 317. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 394.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 185, 197, 209, 221, 233, 245, 281, 293, 305 и 317. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 404.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc

содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 187, 199, 211, 223, 235, 247, 283, 295, 307 и 319. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 394.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 и 389. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 404.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 188, 200, 212, 224, 236, 248, 284, 296, 308 и 320. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 394.

В другом аспекте данное изобретение относится к модифицированному димеру полипептида Fc, содержащему: (a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-

связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание Fc γ R. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 327, 334, 341, 348, 355, 362, 369, 376, 383 и 390. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 404.

В любых аспектах модифицированного димера полипептида Fc, описанных в данном документе, модифицированный димер полипептида Fc по существу не деплетирует ретикулоциты (например, циркулирующие в крови ретикулоциты). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, деплетированных после введения модифицированного димера полипептида Fc, меньше, чем количество ретикулоцитов, деплетированных после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, деплетированных после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5 %, 3%, 2% или 1% от количества ретикулоцитов, деплетированных после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, оставшихся после введения модифицированного димера полипептида Fc, больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, оставшихся после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или на 50% больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся после введения контроля.

В любых аспектах модифицированного димера полипептида Fc, описанных в данном документе, модифицированный димер полипептида Fc по существу не деплетирует ретикулоциты в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, меньше, чем количество ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5 %, 3%, 2% или 1% от количества ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения

модифицированного димера полипептида Fc, больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления количество данного изобретения ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или на 50% больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения контроля.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения контроль представляет собой соответствующий TfR-связывающий димер Fc (то есть имеющий те же мутации, которые приводят к связыванию TfR, что и модифицированный димер полипептида Fc, описанный выше) с полной эффекторной функцией и/или не содержит мутаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом аспекте данное изобретение относится к слитому белку "димер полипептида Fc-Fab", который способен активно транспортироваться через ГЭБ, при этом слитый белок "димер полипептида Fc-Fab" содержит: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать антиген или его антигенсвязывающий фрагмент; и (b) модифицированный димер полипептида Fc, включающий (i) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт и одну или большее количество аминокислотных модификаций, которые уменьшают связывание FcγR, например, при связывании с TfR (например, но характеризуется ограниченным или нулевым уменьшением связывания FcγR, когда не происходит связывание с TfR), и (ii) второй полипептид Fc, который не содержит TfR-связывающий сайт или любые модификации, которые уменьшают связывание FcγR.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR, например, при связывании с TfR, содержат Ala в положении 234 и в положении 235, согласно схеме нумерации EU. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR, например, когда происходит связывание TfR, дополнительно содержат Gly в положении 329 согласно схеме нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержат аминокислотные модификации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, период полужизни в сыворотке). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные модификации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, период полужизни в сыворотке),

включают Thr в положении 252, Thr в положении 254 и Glu в положении 256, согласно схеме нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные модификации, которые увеличивают стабильность в сыворотке (например, период полужизни в сыворотке), включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434 или (ii) Ser или Ala в положении 434, согласно схеме нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления этого аспекта последовательность вариабельной области антитела содержит домен Fab. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения последовательность вариабельной области антитела содержит две тяжелые цепи вариабельной области антитела и две легкие цепи вариабельной области антитела или их соответствующие фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид Fc или димер полипептида Fc является дефицитным по фукозе или афукозилированным (например, как описано в данном документе).

В другом аспекте данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей описанный в данном документе модифицированный димер полипептида Fc и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей слитый белок "димер полипептида Fc-Fab", описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте данное изобретение относится к способу трансцитоза композиции через эндотелий, включающему приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей модифицированный димер полипептида Fc, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный эндотелий представляет собой ГЭБ.

В другом аспекте данное изобретение относится к способу трансцитоза композиции через эндотелий, включающему приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей слитый белок "димер полипептида Fc-Fab", описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный эндотелий представляет собой ГЭБ.

Краткое описание графических материалов

На Фиг. 1A и 1B представлены графики, демонстрирующие, что TfR-связывающий димер полипептида Fc, слитый с анти-BACE1 Fab, в котором TfR-связывающий димер полипептида Fc был модифицирован для уменьшения связывания Fc γ R мутациями L234A и L235A (LALA) (пронумерованы со ссылкой на схему нумерации EU) на обоих

полипептидах Fc димера, не деплетировал ретикулоциты ни в крови (Фиг. 1А), ни в костном мозге (Фиг. 1В) у мышей с нокином TfR (TfR^{ms/hu} KI) человека.

На Фиг. 2А-2D представлены графики, демонстрирующие, что модифицированный димер полипептида Fc, слитый с анти-BACE1 Fab, в котором TfR-связывающий димер полипептида Fc, имеет мутации LALA в цис-конфигурации относительно TfR-связывающего сайта («cis-LALA»), не деплетировал ретикулоциты в крови (Фиг. 2А: в дозе 25 мг/кг; Фиг. 2С: в дозе 50 мг/кг) или в костном мозге (Фиг. 2В: в дозе 25 мг/кг; Фиг. 2D: в дозе 50 мг/кг) у мышей с нокином TfR (TfR^{ms/hu} KI) человека), тогда как аналогично модифицированный димер полипептида Fc, слитый с anti-BACE1 Fab, в котором димер полипептида Fc имеет мутации LALA транс относительно сайта связывания TfR, деплетировал ретикулоциты в крови и костном мозге.

На Фиг. 3А и 3В представлены графики, демонстрирующие, что cis-LALA модифицированный димер полипептида Fc (Фиг.3А: CH3С.35.21; Фиг. 3В: CH3С.35.23), слитый с анти-BACE1 Fab, и модифицированный полипептид Fc с мутациями LALA на обоих полипептидах Fc, слитый с анти-BACE1 Fab, не индуцируют TfR-опосредованную ADCC, тогда как hIgG1 с TfR-связывающим сайтом, но без LALA мутаций, индуцировал ADCC на клетках Ramos, экспрессирующих эндогенный TfR.

На Фиг. 4 представлен график, демонстрирующий, что TfR-связывающий димер полипептида Fc (CH3С.35.21) не оказывал влияния на активность TfR-опосредованной комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC), тогда как контрольное антитело анти-TfR Ab204 индуцировало CDC в клетках CHO-hTfR.

На Фиг. 5 представлен график, демонстрирующий, что cis-LALA модифицированный димер полипептида Fc, слитый с анти-BACE1 Fab, индуцировал повышение уровней белка pSyk в первичных клетках микроглии человека, аналогичных тем, которые наблюдаются в TfR-связывающем полипептиде с hIgG1 дикого типа, тогда как модифицированный димер полипептида Fc с мутациями LALA на обоих полипептидах Fc, слитых с анти-BACE1 Fab, не индуцировал pSyk.

На Фиг. 6А и 6В представлены графики, демонстрирующие, что hIgG1 с cis-LALA димером полипептида Fc и сайтом связывания mCD20 Fab индуцировал уровень ADCC, сходный с таковым для антитела анти-mCD20, и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом (Фиг. 6А). Аналогично, hIgG1 с cis-LALA димером полипептида Fc и сайтом связывания Fab hCD20 индуцировали Fab-опосредованную CDC в той же степени, что и анти-hCD20 и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и hCD20 Fab-связывающим сайтом (Фиг. 6В).

На Фиг. 7А и 7В представлены графики, демонстрирующие, что hIgG1 с cis-LALA димером полипептида Fc и сайтом связывания mCD20 Fab индуцировал устойчивое деплетирование В-клеток, по уровню сходное с таковым для антитела анти-mCD20, и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом (Фиг. 7А и 7В). Эти результаты демонстрируют, что cis-LALA модифицированный димер полипептида Fc, сохраняет свою функцию Fc и обладает Fab-опосредованной эффекторной функцией *in vivo*.

На Фиг. 8А, 8В и 8С представлены графики, демонстрирующие, что у мышей, получавших анти-Аβ, имеющих TfR-связывающий сайт (CH3C.35.23.4) с cis-LALA димером полипептида Fc, наблюдали устойчивый рекрутинг микроглии к Аβ бляшкам (Фиг. 8А: % площади бляшек с микроглиальным перекрытием; Фиг. 8В: те же данные, нормализованные по контрольному IgG) и уменьшенные бляшки размером 30 - 125 мкм² (Фиг. 8С). Эти результаты свидетельствуют о том, что cis-LALA димер полипептида Fc, имеющий анти-Аβ, сохраняет устойчивую эффекторную функцию рекрутинга микроглии и способность уменьшать некоторые Аβ бляшки, аналогично с анти-Аβ.

Подробное описание сущности изобретения

I. ВВЕДЕНИЕ

Модифицированные димеры полипептида Fc, которые включают TfR-связывающий сайт, способны проникать через ГЭБ, а также транспортировать терапевтические средства через ГЭБ. Как описано в данном документе, эти димеры полипептида Fc, если они не предназначены для снижения эффекторной функции, также могут деплетировать ретикулоциты *in vivo*, поскольку ретикулоциты также экспрессируют TfR. Деплетирования ретикулоцитов можно избежать путем введения модификаций, которые удаляют эффекторную функцию в полипептидах Fc димера полипептида Fc, то есть модификаций, которые удаляют или уменьшают Fc-связывание с рецептором (FcγR) (например, замены L234A и L235A (LALA), пронумерованные со ссылкой на Схему нумерации EU). Этот подход, однако, является нежелательным в случаях, когда необходима эффекторная функция, когда Fab-часть молекулы связана со своей мишенью (например, терапевтическим целевым белком).

В данном изобретении предлагаются модифицированные димеры полипептида Fc, которые сохраняют эффекторную функцию, но не вызывают существенного деплетирования ретикулоцитов. Эти модифицированные димеры полипептида Fc также обозначаются в данном документе как «положительные по эффекторной функции, TfR-связывающие димеры полипептида Fc». В некоторых вариантах осуществления данного

изобретения только один из двух полипептидов Fc (а не оба полипептида Fc) димера, положительного по эффекторной функции, TfR-связывающего полипептида Fc, модифицирован как для снижения эффекторной функции, так и для связывания TfR. Другой полипептид Fc модифицированного димера полипептида Fc не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые снижают эффекторную функцию, но он может содержать мутации, которые усиливают эффекторную функцию. Положительные по эффекторной функции, TfR-связывающие димеры полипептида Fc, которые имеют только один из двух полипептидов Fc, содержащих как TfR-связывающий сайт, так и модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, тогда как другой полипептид Fc не содержит TfR-связывающего сайта или любых модификаций, которые уменьшают связывание FcγR, упоминаются как имеющие цис-конфигурацию. Как описано в данном документе, эти модифицированные димеры полипептида Fc, имеющие цис-конфигурацию, тестировали на предмет их влияния на ретикулоциты. Эти эксперименты продемонстрировали, что путем введения как TfR-связывающего сайта, так и мутаций, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR только с одним из двух полипептидов, образующих модифицированный димер полипептида Fc, можно снизить эффекторную функцию при связывании TfR, что приводит к связыванию TfR без существенного деплетирования ретикулоцитов.

Как подробно описано в данном документе, модифицированные димеры полипептида Fc, имеющие различные конфигурации, были слиты с Fab, направленными против терапевтической мишени (например, CD20), чтобы определить, может ли сохраняться эффекторная функция (например, ADCC и CDC), когда Fab связывает свою мишень, а не TfR. Как подробно описано ниже, конкретные конфигурации (а) модификаций, которые уменьшают связывание FcγR, например, при связывании с TfR, и (b) модификаций, которые приводят к связыванию TfR в модифицированном димере полипептида Fc, могут образовываться, когда димер полипептида Fc является слитым с Fab, т.е. представляет собой слитый белок "димер полипептида Fc - Fab", который продолжает сохранять эффекторную функцию (например, ADCC или CDC), но не деплетирует ретикулоциты. Этот подход позволяет применить TfR-опосредованный транспорт через ГЭБ, сохраняя при этом эффекторную функцию.

Таким образом, данное изобретение относится, в частности, к модифицированным димерам полипептида Fc, которые были сконструированы для связывания TfR, имеют сниженную эффекторную функцию (например, ADCC или CDC) при связывании с TfR, но продолжают сохранять эффекторную функцию (например, ADCC или CDC), когда димер

полипептида Fc слит с терапевтическим Fab и связан с целевым антигеном Fab.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

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

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

В данном контексте термин "полипептид Fc" относится к С-концевой области встречающегося в природе полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, который характеризуется Ig-изгибом в качестве структурного домена. Полипептид Fc содержит последовательности константной области, включающие по меньшей мере домен CH2 и/или домен CH3, и может содержать по меньшей мере часть шарнирной области. Как правило, полипептид Fc не содержит вариабельной области.

Термин "модифицированный полипептид Fc" относится к полипептиду Fc, который имеет по меньшей мере одну мутацию, например, замену, делецию или вставку, по сравнению с последовательностью полипептида Fc тяжелой цепи иммуноглобулина дикого типа, но сохраняет общий Ig-изгиб или структуру нативного полипептида Fc.

В данном контексте термин "димер полипептида Fc" относится к димеру двух полипептидов Fc. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения димер полипептида Fc способен связывать рецептор Fc (например, Fc γ R). В димере полипептида Fc два полипептида Fc димеризуются путем взаимодействия между двумя константными доменами антитела CH3. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два полипептида Fc также могут димеризоваться через одну или большее количество дисульфидных связей, которые образуются между шарнирными доменами двух димеризующих мономеров Fc-домена. Димер полипептида Fc может представлять собой димер полипептида Fc дикого типа или модифицированный димер полипептида Fc. Димер полипептида Fc дикого типа образуется путем димеризации двух полипептидов Fc дикого типа. Димер полипептида Fc может быть гетеродимером или гомодимером.

В данном контексте термин "модифицированный димер полипептида Fc" относится к димеру полипептида Fc, который содержит по меньшей мере один

модифицированный полипептид Fc. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный димер полипептида Fc содержит два модифицированных полипептида Fc. Модифицированный димер полипептида Fc может быть гомодимером (то есть содержит два идентичных модифицированных полипептида Fc) или гетеродимером (то есть содержит два разных полипептида Fc, в которых по меньшей мере один из двух полипептидов Fc является модифицированным полипептидом Fc).

В данном контексте термин "трансферриновый рецептор" или "TfR" относится к белку 1 трансферринового рецептора. Полипептидная последовательность трансферринового рецептора человека 1 представлена в SEQ ID NO: 63. Также известны последовательности белка 1 трансферринового рецептора от других видов (, например, шимпанзе, номер доступа XP_003310238.1; макака-резус, NP_001244232.1; собака, NP_001003111.1; крупный рогатый скот, NP_001193506.1; мышь, NP_035768.1; крыса, NP_073203,1; и курица, NP_990587.1). Термин "трансферриновый рецептор" также охватывает аллельные варианты типовых эталонных последовательностей, например, последовательностей человека, которые кодируются геном в хромосомном локусе белка 1 трансферринового рецептора. Полноразмерный белок TfR включает короткую N-концевую внутриклеточную область, трансмембранную область и большой внеклеточный домен. Внеклеточный домен характеризуется тремя доменами: протеазоподобным доменом, спиральным доменом и апикальным доменом. Последовательность апикального домена трансферринового рецептора человека 1 представлена в SEQ ID NO: 31.

В данном контексте термин "рецептор Fc γ " или "Fc γ R" относится к одному типу рецепторов Fc, которые классифицируются на основе типа антитела, которое они распознают. Группа рецепторов Fc γ R включает несколько представителей, Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIA (CD32), Fc γ RIIB (CD32), Fc γ RIIIA (CD16a) и Fc γ RIIIB (CD16b), которые различаются по своей аффинности к антителам из-за разных молекулярных структур. Fc γ R связываются с Fc-частью антител класса IgG и имеют решающее значение для индукции фагоцитоза опсонизированных микроорганизмов. Fc γ R обнаруживаются на клеточной поверхности клеток в иммунной системе. Fc γ R ответственны за проявление эффекторных функций иммунной системы и активируются при связывании Fc-части антитела с указанным рецептором. Fc γ R опосредуют иммунные функции, например, связывание с антителами, которые прикреплены к инфицированным клеткам, или проникновение патогенов, стимулирование фагоцитарных или цитотоксических клеток к уничтожению микроорганизмов или инфицированных клеток с помощью антителоопосредованного

фагоцитоза или ADCC.

В данном контексте термин "уменьшать связывание FcγR" относится к модифицированному полипептиду Fc или модифицированному димеру полипептида Fc, который содержит мутации в домене СНЗ модифицированного полипептида Fc, при этом указанные мутации снижают аффинность модифицированного полипептида Fc к Fcγ R от 0,01% до 90% (например, 0,1%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55 %, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% или 90%) по сравнению с аффинностью полипептида Fc, который не содержит мутаций для уменьшения связывания FcγR (например, димера полипептида Fc дикого типа). Связывание FcγR может быть измерено с помощью, например, методов поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, система Biacore™). В альтернативном варианте, связывание FcγR может быть измерено с помощью функционального анализа, например анализа ADCC, такого как описанный в данном документе (например, анализ уничтожения клеток *in vivo* или *in vitro*). Уменьшение связывания FcγR может быть измерено, когда модифицированный полипептид Fc или модифицированный димер полипептида Fc связан с TfR. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный полипептид Fc или модифицированный димер полипептида Fc может характеризоваться уменьшенным связыванием FcγR при связывании с TfR, но ограниченным (например, уменьшением на менее чем 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5%, 3%, 2% или 1%) или отсутствием уменьшения, если не происходит связывание с TfR.

Как описано далее в данном документе, модифицированный димер полипептида Fc может содержать первый полипептид Fc, который имеет как TfR-связывающий сайт, так и мутации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, и второй полипептид Fc, который не имеет ни TfR-связывающего сайта, ни мутаций, которые уменьшают связывание FcγR. Таким образом, при соединении с TfR полученный асимметричный димер полипептида Fc, имеющий первый и второй полипептиды Fc, может иметь общую уменьшенную аффинность к FcγR. В отличие от этого, может быть ограничение (например, как описано выше) или отсутствие уменьшения связывания FcγR, когда не происходит связывания с TfR.

Термин "FcRn" относится к неонатальному рецептору Fc. Связывание полипептидов Fc с FcRn уменьшает клиренс и увеличивает период полужизни в сыворотке полипептида Fc. Белок FcRn человека представляет собой гетеродимер, который состоит из белка размером около 50 кДа, который аналогичен белку класса I главного комплекса гистосовместимости (МНС) и β2-микроглобулина размером около 15

кДа.

В данном контексте термин "сайт связывания FcRn" относится к области полипептида Fc, которая связывается с FcRn. В IgG человека, сайт связывания FcRn, пронумерованный с помощью схемы нумерации EU, включает L251, M252, I253, S254, R255, T256, M428, H433, N434, H435 и Y436. Эти положения соответствуют положениям 21-26, 198 и 203-206 SEQ ID NO: 1.

В данном контексте термин "нативный сайт связывания FcRn" относится к области полипептида Fc, которая связывается с FcRn и имеет ту же аминокислотную последовательность, что и область встречающегося в природе полипептида Fc, который связывается с FcRn.

В данном контексте термин "по существу не деплетирует ретикулоциты *in vivo*" означает, что уменьшение количества ретикулоцитов (например, уменьшение количества ретикулоцитов костного мозга или циркулирующих в крови ретикулоцитов), вызванное положительным по эффекторной функции, TfR-связывающим димером полипептида Fc, описанным в данном документе, или слитым белком "димер полипептида Fc - Fab", описанным в данном документе, который содержит положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc, является меньше чем (например, меньше чем 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5%, 3%, 2% или 1%) уменьшение количества ретикулоцитов (например, уменьшение количества ретикулоцитов костного мозга или циркулирующих в крови ретикулоцитов), вызванное контролем, например, соответствующим TfR-связывающим димером Fc с полной эффекторной функцией и/или не содержащим мутаций, которые снижают связывание FcγR, или антителом, содержащим соответствующий TfR-связывающий димер Fc с полной эффекторной функцией и/или не содержащим мутаций, уменьшающих связывание FcγR.

Термин "по существу не деплетирует ретикулоциты *in vivo*" также может означать, что количество или процентное содержание оставшихся ретикулоцитов (например, оставшихся ретикулоцитов в костном мозге или в кровотоке) после введения положительного по эффекторной функции, TfR-связывающего димера полипептида Fc, описанного в данном документе, или слитого белка "димер полипептида Fc - Fab", описанного в данном документе, который содержит положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc, является больше чем (например, по меньшей мере на 1%, 5%, 10%, 15%, На 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или на 50% больше чем) количество или процентное содержание оставшихся ретикулоцитов

(например, оставшихся ретикулоцитов в костном мозге или в кровотоке) после введения дозы контроля (например, соответствующий Tfr-связывающий димер Fc с полной эффекторной функцией и/или не содержащий мутаций, которые снижают связывание FcγR, или антитело, содержащее соответствующий Tfr-связывающий димер Fc с полной эффекторной функцией и/или не содержащий мутаций, уменьшающих связывание FcγR.

Количество или процент деплетирования ретикулоцитов (например, деплетирование ретикулоцитов в костном мозге или в кровотоке) или количество или процент оставшихся ретикулоцитов (например, оставшихся ретикулоцитов в костном мозге или в кровотоке) могут быть измерены у мышей с нокином Tfr человека (Tfr^{ms/hu} KI) (например, у мышей, с нокином апикального домена Tfr человека ("мыши с нокином hTfr^{apical}), которые предназначены для замены Tfr мыши на апикальный домен человека/химерный белок Tfr мыши или примата, не являющегося человеком, такого как яванский макак. Измерение может быть выполнено путем введения дозы модифицированного димера Fc или контроля, например, от 25 до 50 мг/кг внутривенно (например, мышам Tfr^{ms/hu} KI), и количество циркулирующих ретикулоцитов может быть измерено через 24 часа после введения дозы с помощью цитохимических реакций с применением гематологической системы Advia 120 (Advia 120 Hematology System), как описано в данном документе. Количество ретикулоцитов костного мозга может быть измерено с применением сортировки FACS для определения популяции Ter119⁺, hCD71^{hi} и популяции FSC^{low}, как описано в данном документе.

Термины "домен CH3" и "домен CH2" в контексте данного описания относятся к полипептидам домена константной области иммуноглобулина. В контексте антител IgG, полипептид домена CH3 относится к сегменту аминокислот от положения примерно 341 до положения примерно 447, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU, а полипептид домена CH2 относится к сегменту аминокислот от положения примерно 231 до положения примерно 340, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Полипептиды доменов CH2 и CH3 также могут быть пронумерованы с помощью схемы нумерации IMGT (ImMunoGeneTics), в которой нумерация доменов CH2 представляет собой 1-110, а нумерация доменов CH3 представляет собой 1-107, в соответствии с Научной схемой нумерации IMGT (веб-сайт IMGT). Домены CH2 и CH3 являются частью Fc области иммуноглобулина. В контексте антител IgG, Fc область относится к сегменту аминокислот от положения примерно 231 до положения примерно 447, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. В данном контексте термин "Fc область" может также включать по меньшей мере часть шарнирной области антитела.

Иллюстративная последовательность шарнирной области представлена в SEQ ID NO: 62.

Термин "вариабельная область" относится к домену в тяжелой цепи или легкой цепи антитела, который является производным от вариабельного (V) гена зародышевой линии, гена разнообразия (D) или гена присоединения (J) (и не является производным от сегмента константного (C μ и C δ) гена), и это придает антителу специфичность для связывания с антигеном. Как правило, вариабельная область антитела содержит четыре консервативных "каркасных" области, перемежающихся с тремя гипервариабельными "областями, определяющими комплементарность".

Термины "дикий тип", "нативный" и "встречающийся в природе" в отношении домена CH3 или CH2 применяются в данном документе для обозначения домена, который имеет последовательность, которая встречается в природе.

В данном контексте термин "мутант" в отношении мутантного полипептида или мутантного полинуклеотида применяется взаимозаменяемо с "вариантом". Вариант относительно заданной эталонной последовательности домена CH3 или CH2 дикого типа может включать встречающиеся в природе аллельные варианты. "Не встречающийся в природе" домен CH3 или CH2 относится к варианту или мутантному домену, которого нет в клетке в естественных условиях и который получен путем генетической модификации, например, с помощью технологии генной инженерии или методики мутагенеза нативного домена CH3 или полинуклеотида домена CH2 или полипептида. "Вариант" включает любой домен, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную мутацию по отношению к дикому типу. Мутации могут включать замены, вставки и делеции.

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

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

химические соединения, которые имеют структуру, отличающуюся от общей химической структуры аминокислоты, но функционируют подобно аминокислоте, встречающейся в природе.

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

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

Термины "полипептид" и "пептид" применяются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков в одной цепи. Эти термины применяют к аминокислотным полимерам, в которых один или большее количество аминокислотных остатков являются искусственными химическими миметиками соответствующих встречающихся в природе аминокислот, а также встречающихся в природе аминокислотных полимеров и не встречающихся в природе аминокислотных полимеров. Аминокислотные полимеры могут содержать исключительно L-аминокислоты, исключительно D-аминокислоты или смесь L и D аминокислот.

В данном контексте термин "белок" относится к полипептиду или димеру (то есть два) или мультимеру (то есть три или большее количество) одноцепочечных полипептидов. Одноцепочечные полипептиды белка могут быть соединены ковалентной связью, например, дисульфидной связью, или нековалентными взаимодействиями.

Термин "консервативная замена", "консервативная мутация" или "консервативно модифицированный вариант" относится к изменению, которое приводит к замене аминокислоты другой аминокислотой, и которое может быть категоризовано как имеющее подобную характеристику. Примеры категорий консервативных аминокислотных групп, определенных таким образом, могут включать:

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

Термины "идентичный" или процент "идентичности", в контексте двух или большего количества полипептидных последовательностей, относятся к двум или большему количеству последовательностей или субпоследовательностей, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент аминокислотных остатков, например, по меньшей мере 60% идентичности, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% или более, которые являются идентичными в указанной области при сравнении и выровнены для максимального соответствия в окне сравнения, или специально определенной области, что измеряется с помощью одного из

алгоритмов сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуального осмотра.

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

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

В данном контексте термин "специфически связывается" или "выборочно связывается" с мишенью например, TfR или FcγR, когда она относится к полипептиду, содержащему модифицированный домен CH3, как описано в данном документе, относится к реакции связывания, посредством которой полипептид связывается с мишенью с большей аффинностью, большей авидностью и/или большей продолжительностью, чем он связывается со структурно отличающейся мишенью. В типовых вариантах осуществления данного изобретения данный полипептид имеет по меньшей мере 5-кратную, 6-кратную, 7-кратную, 8-кратную, 9-кратную, 10-кратную, 20-кратную, 25-кратную, 50-кратную 100-кратную, 1000-кратную, 10000-кратную или более

высокую аффинность к конкретной мишени, например, TfR или FcγR, по сравнению с неродственной мишенью при анализе аффинности в тех же условиях. В данном контексте термин "специфическое связывание", "специфически связывается с" или "является специфичным для" конкретной мишени (например, например, TfR или FcγR), может относиться, например, к молекуле, имеющей равновесную константу диссоциации K_D для мишени, с которой она связывается, например, 10^{-4} М или меньше, например, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, или 10^{-12} М. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ специфически связывается с эпитопом на TfR, который является консервативным среди видов (например, является структурно консервативным среди видов), например, является консервативным между видом примата, который не относится к человеку, и человеческим видом (например, является структурно консервативным между видом примата, который не относится к человеку, и человеческим видом). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид может связываться исключительно с TfR человека.

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

III. TFR-СВЯЗЫВАЮЩИЕ ПОЛИПЕПТИДЫ Fc

В этом разделе описано получение модифицированных полипептидов Fc, которые связываются с TfR и способны переноситься через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

СНЗ TfR-связывающие полипептиды

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит модифицированный домен CH3 Ig человека, такой как домен CH3 IgG. Указанный домен CH3 может быть любого подтипа IgG, то есть, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG, домен CH3 относится к сегменту аминокислот от положения примерно 341 до положения примерно 447, что пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Указанные положения в домене CH3 для целей идентификации соответствующего набора аминокислотных положений для связывания TfR определяются со ссылкой на схему нумерации EU, SEQ ID NO: 3 или аминокислоты 111-217 из SEQ ID NO: 1, если не указано иное. Замены также определяются со ссылкой на схему нумерации EU или SEQ ID NO: 1, то есть аминокислота считается заменой относительно аминокислоты в соответствующем положении по схеме нумерации EU или SEQ ID NO: 1.

Как указано выше, наборы остатков домена CH3, которые могут быть модифицированы, пронумерованы в данном документе со ссылкой на схему нумерации EU или SEQ ID NO: 1. Любой домен CH3, например, домен CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, может иметь модификации, например, аминокислотные замены в одном или большем количестве наборов остатков, которые соответствуют остаткам в отмеченных положениях в схеме нумерации EU или SEQ ID NO: 1. Положения каждой из последовательностей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, которые соответствуют любому заданному положению по схеме нумерации EU или SEQ ID NO: 1, могут быть легко определены.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что домены CH3 других изоформ иммуноглобулинов, например IgM, IgA, IgE, IgD и т. д. могут быть аналогичным образом модифицированы путем идентификации аминокислот в тех доменах, которые соответствуют положениям аминокислот, описанным данным документе. Модификации также могут быть внесены в соответствующие домены из иммуноглобулинов других видов, например, приматов, не относящихся к человеку, обезьян, мышей, крыс, кроликов, собак, свиней, кур и т.п.

В одном варианте осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом CH3, который специфически связывает TfR, связывается с апикальным доменом TfR на эпителии, который содержит положение 208 полноразмерной последовательности TfR человека (SEQ ID NO: 63), которое соответствует положению 11 последовательности апикального домена TfR человека, представленной в SEQ ID NO: 31. SEQ ID NO: 31 соответствует аминокислотам 198-378 последовательности P02786 унипротеина TfR-1 человека (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом CH3

связывается с апикальным доменом TfR на эпитопе, который содержит положения 158, 188, 199, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215 и/или 294 полноразмерной последовательности TfR человека (SEQ ID NO: 63). Указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ может связываться с TfR без блокирования или иного ингибирования связывания трансферрина с указанным рецептором. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR по существу не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 50% (например, менее чем на около 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5%). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 20% (например, менее чем на около 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%). Иллюстративные полипептиды домена СНЗ, которые проявляют эту специфичность связывания, включают полипептиды, имеющие аминокислотные замены в положениях 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421, согласно схеме нумерации EU.

Набор связывания СНЗ TfR: 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать замен в наборе аминокислотных положений, включающем 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421, согласно схеме нумерации EU (набор СНЗС). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, приведены в Таблице 3. Дополнительные замены приведены в Таблице 4. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислота в положении 388 и/или 421 представляет собой ароматическую аминокислоту, например, Trp, Phe или Tyr. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислота в положении 388 представляет собой Trp. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислота в положении 388 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанная ароматическая аминокислота в положении 421 представляет собой Trp или Phe.

В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит одно, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать положений, выбранных из следующих: Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr, или Gln в положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val,

Pro, Ile или кислотная аминокислота в положении 387; Trp в положении 388; алифатическая аминокислота, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислотная аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислотная аминокислота в положении 416; и/или ароматическая аминокислота, His или Lys в положении 421.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ, который специфически связывается с TfR, содержит по меньшей мере одно положение, имеющее замену, согласно схеме нумерации EU, следующим образом: Leu, Tyr, Met или Val в положении 384; Leu, Thr, His или Pro в положении 386; Val, Pro или кислотная аминокислота в положении 387; ароматическая аминокислота, например, Trp или Gly (например, Trp) в положении 388; Val, Ser или Ala в положении 389; кислотная аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 413; Thr или кислотная аминокислота в положении 416; или Trp, Tyr, His или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ может содержать консервативную замену, например, аминокислоту в одной и той же группировке по заряду, группировке по гидрофобности, группировке по структуре боковой цепи (например, ароматические аминокислоты) или группировке по размеру и/или полярной или неполярной группировке указанной аминокислоты в одном или большем количестве положений в наборе. Таким образом, Ile может присутствовать в положении 384, 386 и/или в положении 413. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения кислотная аминокислота в одном, двух или в каждом из положений 387, 413 и 416 представляет собой Glu. В других вариантах осуществления данного изобретения кислотная аминокислота в одном, двух или в каждом из положений 387, 413 и 416 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения два, три, четыре, пять, шесть, семь или все восемь положений 384, 386, 387, 388, 389, 413, 416 и 421 имеют аминокислотную замену, как указано в этом параграфе.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с доменом СНЗ, имеющий модификации в наборе СНЗС, содержит нативную Asn в положении 390. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala или Asp в положении 390. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно

содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Trp, Tyr, Leu или Gln могут присутствовать в положении 380. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Ser, Thr, Gln или Phe могут присутствовать в положении 391. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Gln, Phe или His могут присутствовать в положении 392. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Glu может присутствовать в положении 415.

В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь девять или десять положений, выбранных из следующих: Trp, Leu или Glu в положении 380; Tyr или Phe в положении 384; Thr в положении 386; Glu в положении 387; Trp в положении 388; Ser, Ala, Val или Asn в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Thr или Ser в положении 413; Glu или Ser в положении 415; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит все одиннадцать положений, как приведено ниже: Trp, Leu или Glu в положении 380; Tyr или Phe в положении 384; Thr в положении 386; Glu в положении 387; Trp в положении 388; Ser, Ala, Val или Asn в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Thr или Ser в положении 413; Glu или Ser в положении 415; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421.

В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит Leu или Met в положении 384; Leu, His или Pro в положении 386; Val в положении 387; Trp в положении 388; Val или Ala в положении 389; Pro в положении 413; Thr в положении 416; и/или Trp в положении 421. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380 и/или Gln, Phe или His в положении 392. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Trp присутствует в положении 380 и/или Gln присутствует в положении 392. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ не имеет Trp в положении 380.

В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид с

модифицированным доменом СНЗ содержит Tyr в положении 384; Thr в положении 386; Glu или Val в положении 387; Trp в положении 388; Ser в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит нативную Asp в положении 390. В определенных вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380; и/или Glu в положении 415. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Glu в положении 415.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранных из следующих положений: положения 414, представляющего собой Lys, Arg, Gly или Pro; положения 424, представляющего собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положения 426, представляющего собой Ser, Trp или Gly.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный модифицированный домен СНЗ содержит одну или большее количество из следующих замен: Trp в положении 380; Thr в положении 386; Trp в положении 388; Val в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 415; и/или Phe в положении 421.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ, который специфически связывает TfR, имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит аминокислоты 154-160 и/или 183-191 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит аминокислоты 150-160 и/или 183-191 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит аминокислоты 150-160 и/или 183-196 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94,

107-109, 119 и 268-270).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111 -217 SEQ ID NO: 1, при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 154, 156, 157, 158, 159, 160, 183, 186 и 191 из SEQ ID NO: 1 (положения 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, согласно схеме нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ содержит аминокислоты 154-160 и/или аминокислоты 183-191, как указано в любой из любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид с модифицированным доменом СНЗ имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270), при условии, что по меньшей мере пять, шесть семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать или шестнадцать положений, которые соответствуют положениям 150, 154, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 183, 184, 185, 186, 191, 194 и 196 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268 -270) (положения 380, 384, 386, 384, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 и 426, согласно схеме нумерации EU) не удалены или не заменены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид с модифицированным доменом СНЗ имеет по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 4 -29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270) и также содержит по меньшей мере пять, шесть, семь, восемь, девять, десять одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать или шестнадцать из следующих положений: Trp, Tyr, Leu, Gln или Glu в положении 380; Leu, Tyr, Met или Val в положении 384; Leu, Thr, His или Pro в положении 386; Val, Pro или кислотная аминокислота в положении 387; ароматическая аминокислота, например, Trp, в

положении 388; Val, Ser или Ala в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391; Gln, Phe или His в положении 392; кислотная аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 413; Lys, Arg, Gly или Pro в положении 414; Glu или Ser в положении 415; Thr или кислотная аминокислота в положении 416; Trp, Tyr, His или Phe в положении 421; Ser, Thr, Glu или Lys в положении 424; и Ser, Trp или Gly в положении 426.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 38-52. В других вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 38-52, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 38-52, но в которой три аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 53-61. В других вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 53-61, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 53-61, но в которой три или четыре аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 131-167. В других вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 131-167, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 131-167, но в которой три аминокислоты замещены.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 58, 60 и 168-173. В других вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 58, 60 и 168-173, но в которой одна или две аминокислоты замещены. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную

последовательность любой из SEQ ID NO: 58, 60 и 168-173, но в которой три или четыре аминокислоты замещены.

В дополнительных вариантах осуществления данного изобретения Tfr-связывающий полипептид содержит аминокислоты 157-194, аминокислоты 153-194 или аминокислоты 153-199 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В других вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или, по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 157-194 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270) или аминокислотами 153-194 или аминокислотами 153-199 любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В других вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270).

Сайты связывания FcRn

Описанный в данном документе полипептид, который может транспортироваться через ГЭБ, дополнительно может содержать сайт связывания FcRn. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn находится в модифицированном полипептиде Fc или его фрагменте.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn содержит нативный сайт связывания FcRn. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn не содержит аминокислотных изменений относительно аминокислотной последовательности нативного сайта связывания FcRn. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения нативный сайт связывания FcRn представляет собой сайт связывания IgG, например, сайт связывания IgG человека. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn содержит модификацию, которая изменяет связывание FcRn.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn имеет один или большее количество аминокислотных остатков, которые являются мутированными, например, замещены, при этом указанная мутация (мутации) увеличивает период полужизни в сыворотке или существенно не уменьшают период полужизни в сыворотке (то есть уменьшает период полужизни в сыворотке не более чем на 25% по сравнению с аналогичным белком, имеющим остатки дикого типа в мутированных положениях при анализе в тех же условиях). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn имеет один или большее количество аминокислотных остатков, которые замещены в положениях с 21 по 26, 198 и с 203 по 206, при этом указанные положения определены со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения сайт связывания FcRn содержит одну или большее количество мутаций относительно нативной последовательности IgG человека, которые увеличивают период полужизни модифицированного полипептида в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения мутацию, например, замену, вводят в одном или большем количестве положений 14-27, 49-54, 77-87, 153-160 и 198-205, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1 (которые соответствуют положениям 244-257, 279-284, 307-317, 383-390 и 428-435 с применением нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения одну или большее количество мутаций вводят в положениях 21, 22, 24, 25, 26, 77, 78, 79, 81, 82, 84, 155, 156, 157, 159, 198, 203, 204 или 206, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1 (которые соответствуют положениям 251, 252, 254, 255, 256, 307, 308, 309, 311, 312, 314, 385, 386, 387, 389, 428, 433, 434 или 436 с применением нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения мутации вводят в одно, два или три положения 22, 24 и 25, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1 (которые соответствуют положениям 252, 254 и 256 с применением нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные мутации представляют собой M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, дополнительно содержит мутации M22Y, S24T и T26E. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения мутации вводят в одно или два положения 198 и 204, что определено со ссылкой на SEQ ID NO: 1 (которые соответствуют положениям 428 и 434 с применением нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные мутации представляют собой M198L и N204S, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В

некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, дополнительно содержит мутацию N204S с или без M198L. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит замену в одном, двух или всех трех положениях T307, E380 и N434 в соответствии с нумерацией EU (которые соответствуют положениям T77, E150 и N204, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные мутации представляют собой T307Q и N434A (SEQ ID NO: 1, T77Q и N204A). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит мутации T307A, E380A и N434A (SEQ ID NO: 1, T77A, E150A и N204A). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит замены в положениях T250 и M428 (которые соответствуют положениям T20 и M198, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид Fc содержит мутации T250Q и/или M428L (SEQ ID NO: 1, T20Q и M198L). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит замены в положениях M428 и N434 (которые соответствуют положениям M198 и N204, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит замены M428L и N434S (которые соответствуют M198L и N204S, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc содержит замену N434S или N434A (что соответствует N204S или N204A, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1).

IV. МУТАЦИИ, КОТОРЫЕ СНИЖАЮТ ЭФФЕКТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ИЛИ СВЯЗЫВАНИЕ FcγR

Полипептид Fc по данному изобретению, который модифицирован для связывания TfR и инициации транспорта через ГЭБ, также может содержать дополнительные мутации для снижения эффекторной функции. Как описано в данном документе, путем введения как TfR-связывающего сайта, так и мутаций, которые уменьшают связывание FcγR с тем же полипептидом Fc димера полипептида Fc, можно было снизить эффекторную функцию при связывании TfR, что приводит к связыванию TfR без существенного деплетирования ретикулоцитов, но все еще с сохранением эффекторной функции (например, ADCC или CDC), когда димер полипептида Fc слит с терапевтическим Fab и связан с целевым антигеном Fab.

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

Примеры эффекторных функций включают, но не ограничиваются ими, связывание C1q и CDC, связывание Fc рецептора, ADCC, антитело-зависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP), снижение уровня экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток) и активацию В-клеток. Эффекторные функции могут варьироваться в зависимости от класса антител. Например, нативные антитела IgG1 и IgG3 человека могут вызывать активности ADCC и CDC при связывании с соответствующим Fc рецептором, присутствующим на клетке иммунной системы; а нативные IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека могут вызывать функции ADCP при связывании с соответствующим Fc рецептором, присутствующим на иммунной клетке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид Fc, имеющий TfR-связывающий сайт, как описано в данном документе, может включать дополнительные модификации, которые уменьшают эффекторную функцию, то есть уменьшают эффекторную функцию при связывании TfR. Желательно иметь сниженную эффекторную функцию в условиях TfR-связывания димера полипептида Fc, поскольку это приводит к уменьшению деплетирования ретикулоцитов, так как ретикулоциты также имеют TfR на клеточной поверхности. Как подробно описано в данном документе, димеры полипептида Fc, имеющие цис-конфигурацию, то есть димеры полипептида Fc, имеющие как TfR-связывающий сайт, так и мутации, которые снижают эффекторную функцию одного и того же полипептида Fc димера полипептида Fc, демонстрируют связывание TfR без существенного деплетирования ретикулоцитов, но все еще с сохранением эффекторной функции (например, ADCC или CDC), когда димер полипептида Fc слит с терапевтическим Fab и связан с целевым антигеном Fab. Наличие эффекторной функции, когда димер полипептида Fc слит с терапевтическим Fab, который связан с целевым антигеном Fab, является желательным, например, при лечении рака (например, при лечении рака головного мозга).

Иллюстративные мутации полипептида Fc, которые модулируют эффекторную

функцию, включают, но не ограничиваются ими, замены в домене CH2, например, в положениях, соответствующих положениям 4 и 5 из SEQ ID NO: 1 (положения 234 и 235 согласно схеме нумерации EU) . В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные замены в модифицированном домене CH2 содержат Ala в положениях 4 и 5 последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные замены в модифицированном домене CH2 включают Ala в положениях 4 и 5 и Gly в положении 99 последовательности SEQ ID NO: 1.

Дополнительные мутации Fc полипептида, которые модулируют эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, одну или большее количество замен в положениях 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 (схема нумерации EU, что соответствует положениям 8, 35, 39, 40, 67, 97 и 99, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1). Иллюстративные замены (пронумерованные по схеме нумерации EU) включают в себя следующие: положение 329 может иметь мутацию, при которой пролин замещается глицином или аргинином или аминокислотным остатком, достаточно большим для разрушения поверхности контакта Fc/Fc γ рецептора, образовавшейся между пролином 329 Fc и остатками триптофана Trp 87 и Trp 110 Fc γ RIII. . Дополнительные иллюстративные замены включают S228P, E233P, L235E, N297A, N297D и P331S. Также могут присутствовать множественные замены , например, L234A и L235A Fc области IgG1 человека; L234A, L235A и P329G Fc области IgG1 человека; S228P и L235E Fc области IgG4 человека; L234A и G237A Fc области IgG1 человека; L234A, L235A и G237A Fc области IgG1 человека; V234A и G237A Fc области IgG2 человека; L235A, G237A и E318A Fc области IgG4 человека; и S228P и L236E Fc области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид Fc может иметь одну или большее количество аминокислотных замен, которые модулируют ADCC, например, замены в положениях 298, 333 и/или 334 Fc области, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, как описано в данном документе, может иметь одну или большее количество аминокислотных замен, которые увеличивают или уменьшают ADCC, или может иметь мутации, которые изменяют связывание C1q и/или CDC.

В конкретных вариантах осуществления данного изобретения полипептид Fc, имеющий TfR-связывающий сайт, может быть модифицирован для снижения эффекторной функции, то есть для снижения связывания Fc γ R. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения полипептид Fc, имеющий TfR-связывающий сайт, может включать мутации L234A и L235A (схема нумерации EU, что соответствует положениям 4 и 5, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1). В других вариантах осуществления данного изобретения полипептид Fc, имеющий TfR-связывающий сайт, может включать мутации L234A, L235A и P329G (схема нумерации EU, что соответствует положениям 4, 5 и 99, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 1).

V. ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПО ЭФФЕКТОРНОЙ ФУНКЦИИ TfR-СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДИМЕРЫ ПОЛИПЕПТИДА Fc

В некоторых аспектах данного изобретения предлагаются положительные по эффекторной функции, TfR-связывающие димеры полипептида Fc, которые модифицированы для связывания с TfR и характеризуются пониженным связыванием FcγR при связывании с TfR, но характеризуются ограниченным или отсутствующим снижением связывания FcγR без осуществления связывания с TfR. Эти модифицированные димеры полипептида Fc могут быть слиты с терапевтическими Fab, чтобы транспортировать их через ГЭБ. Продемонстрировано, что эти модифицированные димеры полипептида Fc обладают пониженной эффекторной функцией при связывании TfR. Когда модифицированный димер полипептида Fc слит с Fab, указанный димер полипептида Fc сохраняет эффекторную функцию, когда Fab связан с его мишенью (например, мишенью на раковой клетке). Таким образом, описанные в данном документе положительные по эффекторной функции, TfR-связывающие димеры полипептида Fc способны транспортировать Fab через ГЭБ без существенного деплетирования ретикулоцитов (которые также содержат TfR на поверхности клетки), а также служат своей терапевтической цели путем проявления эффекторной функции, которая может нацеливаться на внеклеточные агрегаты (например, бляшки) или определенные пораженные клетки (например, раковые клетки) в головном мозге, вызывая их разрушение, когда Fab связан со своей мишенью.

Описанные в данном документе положительные по эффекторной функции, TfR-связывающие димеры полипептида Fc имеют цис-конфигурацию, что означает, что только один (не оба) из полипептидов Fc в димере полипептида Fc является модифицированным, чтобы иметь TfR-связывающий сайт, и при этом модификации уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR. Другой полипептид Fc в димере полипептида Fc не содержит ни TfR-связывающего сайта, ни модификаций, которые существенно снижают связывание FcγR. Транс-конфигурация модифицированных димеров полипептида Fc относится к димеру полипептида Fc, в котором один из двух полипептидов Fc содержит TfR-

связывающий сайт, тогда как другой полипептид Fc содержит модификации, которые уменьшают связывание FcγR, например, при связывании с TfR. Как продемонстрировано в данном документе, модифицированные димеры полипептида Fc, имеющие цис-конфигурацию, а не транс-конфигурацию, способны уменьшать деплетирование ретикулоцитов в крови и костном мозге (см., например, Фиг. 2A-2D).

В одном варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (а) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, и аминокислотные модификации L234A и L235A, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (а) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (а) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит аминокислотную модификацию N434S с или без M428L и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В одном варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (а) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по

эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает

TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит

мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию выступа T366W, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутацию выступа T366W, а

также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутации впадины T366S, L368A, и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W,

согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T, и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M4281, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотные модификации M252Y, S254T и T256E, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В другом варианте осуществления данного изобретения положительный по эффекторной функции, TfR-связывающий димер полипептида Fc содержит: (a) первый полипептид Fc, содержащий TfR-связывающий сайт, который специфически связывает TfR, аминокислотные модификации L234A, L235A и P329G, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

VI. ИЗМЕРЕНИЕ ЭФФЕКТОРНОЙ ФУНКЦИИ ИЛИ СВЯЗЫВАНИЯ FcγR

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

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

ADCC представляет собой тип иммунного ответа, при котором антитела связываются с антигенами на поверхности патогенных или онкогенных клеток-мишеней и идентифицируют их для разрушения эффекторными клетками, например мононуклеарными клетками периферической крови (например, клетками естественными киллерами (NK), Т-клетками, и В-клетками). Эффекторные клетки, несущие FcγR, распознают и связывают Fc-область антител, связанных с клеткой-мишенью. Таким образом, указанные антитела придают специфичность процессу уничтожения клеток-мишеней. CDC инициируется, когда C1q, инициирующий компонент классического пути комплемента, связан с Fc-областью антител, связанных с мишенью. Активности ADCC и CDC могут быть определены в стандартном анализе уничтожения клеток *in vivo* или *in vitro*. Способы определения активностей ADCC и CDC доступны в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанные способы могут включать мечение клеток-мишеней радиоактивным материалом, таким как ⁵¹Cr, или флуоресцентным красителем, таким как кальцеин-АМ. Меченые клетки могут быть инкубированы с антителом и эффекторными клетками, и уничтожение клеток-мишеней с помощью ADCC или CDC может быть обнаружено по высвобождению радиоактивности или флуоресценции.

Другие анализы для измерения активностей ADCC и CDC включают, например, анализ высвобождения лактатдегидрогеназы (LDH). Когда клеточные мембраны каким-либо образом нарушены или повреждены, LDH, растворимый, но стабильный фермент в цитоплазме, высвобождается в окружающее внеклеточное пространство. Факт присутствия этого фермента в культуральной среде можно использовать в качестве маркера гибели клеток. Относительные количества живых и мертвых клеток в среде можно затем определить количественно путем измерения количества высвобождаемой LDH с помощью колориметрического или флуориметрического анализа цитотоксичности LDH.

VII. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В Fc-ОБЛАСТИ, КОТОРАЯ СОДЕРЖИТ ПОЛИПЕПТИД С МОДИФИЦИРОВАННЫМ ДОМЕНОМ CH3

Предлагаемый в данном изобретении полипептид Fc, который модифицирован для связывания TfR и инициирования транспорта через ГЭБ, может также содержать дополнительные мутации, например, чтобы повысить стабильность в сыворотке или

увеличить период полужизни в сыворотке, модулировать эффекторную функцию, влиять на гликозилирование, снижать иммуногенность у людей и/или обеспечивать гетеродимеризацию полипептидов с помощью "выступов" и "впадин".

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

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

В одном иллюстративном варианте осуществления подхода к димеризации с помощью выступов и впадин, положение, соответствующее положению 136 последовательности SEQ ID NO: 1 первой субъединицы Fc полипептида, подлежащей димеризации, имеет триптофан вместо нативного треонина, а вторая субъединица Fc полипептида димера имеет валин в положении, соответствующем положению 177 последовательности SEQ ID NO: 1 вместо нативного тирозина. Вторая субъединица Fc полипептида может дополнительно содержать замену, в которой нативный треонин в положении, соответствующем положению 136 последовательности SEQ ID NO: 1,

замещен серином, а нативный лейцин в положении, соответствующем положению 138 последовательности SEQ ID NO: 1, замещен аланином.

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

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения могут быть введены модификации для увеличения времени полужизни в сыворотке. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, содержит домен СН2, содержащий Tyr в положении, соответствующем положению 22 последовательности SEQ ID NO: 1, Thr в положении, соответствующем 24 последовательности SEQ ID NO: 1, и Glu в положении, соответствующем положению 26 последовательности SEQ ID NO: 1. В альтернативном варианте модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе, может содержать замены M198L и N204S, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1. В альтернативном варианте модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе, может содержать замену N204S или N204A, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1.

Иллюстративные полипептиды Fc, содержащие дополнительные мутации

Модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1) может содержать дополнительные мутации, включая мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и/или мутации, которые увеличивают стабильность или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1, или (ii) N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23,

СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1) может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию выступа.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1), может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268 -274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию выступа и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1), может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1 или (ii) N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах

осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию выступа и мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1), может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1 или (ii) N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутацию выступа, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1) может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть

модифицирован, чтобы иметь мутацию впадины.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1), может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268 - 274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутации впадины и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23, СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1), может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1 или (ii) N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутации впадины и мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе (например, любой из клонов СНЗС.35.20.1, СНЗС.35.23.2, СНЗС.35.23.3, СНЗС.35.23.4, СНЗС.35.21.17.2, СНЗС.35.23,

СНЗС.35.21, СНЗС.35.20.1.1, СНЗС.35.23.2.1 и СНЗС.35.23.1.1), может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1 или (ii) N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270). В некоторых вариантах осуществления осуществления данного изобретения модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 4-29, 64-127 и 268-274 (например, SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119, и 268-270), может быть модифицирован, чтобы иметь мутации впадины, мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

Клон СНЗС.35.20.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС. 35.20.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 177. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 177.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 178 или 179. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутацией "выступа" и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 178 или 179.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период

полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 180. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 180.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 322. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 322.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 181 или 182. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 181 или 182.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.20.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или

по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 323 или 324.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 183.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 184 или 185. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 184 или 185.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 186. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 186.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90%

идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 325. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 325.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 187 или 188. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 187 или 188.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 326 или 327. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 326 или 327.

Клон СНЗС.35.23.2

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 189. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутацией

выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 189.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 190 или 191. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 190 или 191.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 192. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 192.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 329. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 329.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:

1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 193 или 194. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 193 или 194.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 330 или 331. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 330 или 331.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 195. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 195.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 196 или 197. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 196 или 197.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2

может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 198. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 198.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 332. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 332.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 199 или 200. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 199 или 200.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период

полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 333 или 334. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 333 или 334.

Клон СНЗС.35.23.3

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 201. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 201.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 202 или 203. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 202 или 203.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 204. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 204.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ

ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 336. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 336.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 205 или 206. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 205 или 206.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 337 или 338. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 337 или 338.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90%

идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 207. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 207.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 208 или 209. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 208 или 209.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 210. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 210.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 339. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 339.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на

SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 211 или 212. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 211 или 212.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 340 или 341. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.3 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 340 или 341.

Клон СНЗС.35.23.4

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 213. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 213.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 214 или 215. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 с мутацией выступа и

мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 214 или 215.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 216. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 216.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 343. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 343.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 217 или 218. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 217 или 218.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ

ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 344 или 345. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 344 или 345.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 219. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 219.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 220 или 221. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 220 или 221.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 222. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 222.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 346. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:346.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 223 или 224. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 223 или 224.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 347 или 348. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.4 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 347 или 348.

Клон СНЗС.35.21.17.2

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 225. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 225.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 226 или 227. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 226 или 227.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 228. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 228.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 350. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:

350.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 229 или 230. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 229 или 230.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 351 или 352. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 351 или 352.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 231. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 231.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21.17.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (

например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 232 или 233. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 232 или 233.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 234. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:234.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 353. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 353.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1),и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 235 или 236. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон

СНЗС.35.21.17.2 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 235 или 236.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 354 или 355. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21.17.2 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 354 или 355.

Клон СНЗС.35.23

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 237. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 237.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 238 или 239. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 238 или 239.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период

полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 240. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 240.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 357. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 357.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 241 или 242. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 241 или 242.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или

по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 358 или 359. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 358 или 359.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 243. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 243.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 244 или 245. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 244 или 245.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 246. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 246.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90%

идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 360. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:360.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 247 или 248. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 247 или 248.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 361 или 362. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 361 или 362.

Клон СНЗС.35.21

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 250. В

некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 250.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 252 или 275. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 252 или 275.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 276. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 276.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 364. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 364.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в

сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 277 или 278. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 277 или 278.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 365 или 366. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 365 или 366.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 279. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 279.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 280 или 281. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.21 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 280 или 281.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 282. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 282.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 367. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 367.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 283 или 284. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 283 или 284.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на

SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 368 или 369. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.21 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 368 или 369.

Клон СНЗС.35.20.1.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 285. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 285.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 286 или 287. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 286 или 287.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 288. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 288.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 371. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 371.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 289 или 290. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 289 или 290.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию "выступа" (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 372 или 373. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 372 или 373.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 291. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 291.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 292 или 293. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 292 или 293.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 294. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 294.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 374. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:

374.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24Ti T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 295 или 296. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 295 или 296.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 375 или 376. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.20.1.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 375 или 376.

Клон СНЗС.35.23.2.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 297. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 297.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ

ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 298 или 299. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 298 или 299.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 300. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 300.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 378. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 378.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон CH3C.35.23.2.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по

меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 301 или 302. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 301 или 302.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 379 или 380. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 379 или 380.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 303. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 303.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 304 или 305. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 304 или 305.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со

ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 306. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 306.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 381. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 381.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 307 или 308. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 307 или 308.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на

SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 382 или 383. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.2.1 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 382 или 383.

Клон СНЗС.35.23.1.1

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 309. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутацией выступа имеет последовательность SEQ ID NO: 309.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 310 или 311. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутацией выступа и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 310 или 311.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 312. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 312.

[0004] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 385. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутацией выступа и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 385.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 313 или 314. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 313 или 314.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию выступа (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 386 или 387. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутацией выступа, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 386 или 387.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 315. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутациями впадины имеет последовательность SEQ ID NO: 315.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 316 или 317. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутациями впадины и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 316 или 317.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 318. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 318.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.12.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 388. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутациями впадины и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO:

388.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутации впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 319 или 320. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 319 или 320.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 может иметь мутацию впадины (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с или без M198L, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 389 или 390. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения клон СНЗС.35.23.1.1 с мутациями впадины, мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 389 или 390.

VIII. ФОРМАТЫ ДЛЯ tFr-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный Tfr-связывающий полипептид, как описано в данном документе, представляет собой субъединицу белкового димера. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер представляет собой гетеродимер. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер представляет собой гомодимер. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный димер содержит один полипептид Fc, который связывается с рецептором Tfr, то есть, является одновалентным для связывания рецептора Tfr. В некоторых вариантах осуществления

данного изобретения указанный димер содержит второй полипептид, который связывается с рецептором TfR. Второй полипептид может содержать такой же модифицированный полипептид Fc для обеспечения двухвалентного гомодимерного белка, или второй модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, может обеспечить второй сайт связывания с рецептором TfR.

TfR-связывающие полипептиды, описанные в данном документе, и димерные или мультимерные белки, содержащие полипептиды, могут иметь широкий диапазон аффинностей связывания, например, в зависимости от формата полипептида. Например, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения полипептид, содержащий модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе, имеет аффинность к TfR в диапазоне от 1 пМ до 10 мкМ. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аффинность может быть измерена в одновалентном формате. В других вариантах осуществления данного изобретения аффинность может быть измерена в двухвалентном формате, например, в виде димера белка, содержащего модифицированный полипептид Fc.

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

помощью этих типов анализов. Связывание FcRn обычно анализируют в кислых условиях, например, при pH от около 5 до около 6.

IX. КОНЬЮГАТЫ TFR-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения модифицированный полипептид, который связывает Tfr и инициирует транспорт через ГЭБ, содержит модифицированный полипептид Fc, как описано в данном документе, и дополнительно содержит частичную или полную шарнирную область. Шарнирная область может быть из любого подкласса или изотипа иммуноглобулина. Иллюстративным шарниром иммуноглобулина является шарнирная область IgG, такая как шарнирная область IgG1, например, аминокислотная последовательность шарнира IgG1 человека EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 62). В других вариантах осуществления данного изобретения указанный полипептид, который может содержать шарнирную или частичную шарнирную область, дополнительно слит с другим фрагментом, например, переменной областью иммуноглобулина, таким образом генерируя слитый полипептид "Tfr-связывающий полипептид-переменная область". Указанная переменная область может связываться с любым антигеном, представляющим интерес, например, терапевтической неврологической мишенью или диагностической неврологической мишенью.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный Tfr-связывающий полипептид (например, модифицированный полипептид Fc) слит с переменной областью через линкер. Как указано в предыдущем абзаце, Tfr-связывающий полипептид (например, модифицированный полипептид Fc) может быть слит с переменной областью посредством шарнирной области. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный Tfr-связывающий полипептид (например, модифицированный полипептид Fc) может быть слит с переменной областью посредством пептидного линкера. Указанный пептидный линкер может быть сконфигурирован так, что он позволяет вращать переменную область и Tfr-связывающий полипептид относительно друг друга; и/или является устойчив к расщеплению протеазами. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный линкер может представлять собой гибкий линкер, например, содержащий аминокислоты, такие как Gly, Asn, Ser, Thr, Ala и тому подобное. Такие линкеры разработаны с применением известных параметров. Например, указанный линкер может иметь повторы, такие как повторы Gly-Ser.

Указанная переменная область может иметь любой формат антитела, например,

формат Fab или scFv. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения последовательность вариабельной области антитела содержит две тяжелые цепи вариабельной области антитела и две легкие цепи вариабельной области антитела или их соответствующие фрагменты.

TfR-связывающий полипептид (например, модифицированный полипептид Fc) также может быть слит с полипептидом, отличным от вариабельной области иммуноглобулина, которая нацелена на антиген, представляющий интерес. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения такой полипептид сливают с TfR-связывающим полипептидом с применением пептидного линкера, например, гибкого линкера, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения TfR-связывающий полипептид может быть слит с полипептидом, например, терапевтическим полипептидом, который желательно нацелить на клетку, экспрессирующую TfR-связывающий полипептид. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный TfR-связывающий полипептид сливают с биологически активным полипептидом для транспорта через ГЭБ, например, с растворимым белком, например, внеклеточным доменом рецептора или фактором роста, цитокином или ферментом.

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

Неполипептидные агенты также могут быть присоединены к TfR-связывающему полипептиду. Такие агенты включают цитотоксические агенты, визуализирующие агенты, молекулу ДНК или РНК или химическое соединение. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный агент может представлять собой терапевтическое или визуализирующее химическое соединение. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный агент представляет собой малую молекулу, например, менее 1000 Да, менее 750 Да или менее 500 Да.

Агент, либо полипептид, либо не-полипептид, может быть присоединен к N-концевой или C-концевой области TfR-связывающего полипептида или присоединен к любой области полипептида, если агент не препятствует связыванию TfR-связывающего полипептида с TfR.

В различных вариантах осуществления данного изобретения конъюгаты могут быть получены с применением хорошо известных химических перекрестносшивающих реагентов и протоколов. Например, существует большое количество химических перекрестносшивающих агентов, которые известны специалистам в данной области техники и пригодны для сшивания полипептида с представляющим интерес агентом. Например, указанные перекрестносшивающие агенты представляют собой гетеробифункциональные перекрестносшивающие агенты, которые можно применять для поэтапного связывания молекул. Гетеробифункциональные перекрестносшивающие линкеры дают возможность разрабатывать более специфические способы связывания для конъюгирующих белков, тем самым уменьшая возникновение нежелательных побочных реакций, таких как гомополимерные полимеры.

Представляющий интерес агент может представлять собой терапевтический агент, включая цитотоксические агенты и тому подобное, или химический фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный агент может представлять собой пептид или низкомолекулярный терапевтический или визуализирующий агент.

X. СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТОРНОЙ ФУНКЦИИ

Для некоторых применений желательно ввести модификации в модифицированные полипептиды Fc или модифицированные димеры полипептида Fc, описанные в данном документе, которые повышают эффекторную функцию (например, ADCC). Один из способов повышения эффекторной функции включает получение модифицированных полипептидов Fc или модифицированных димеров полипептидов Fc, которые являются афукозилированными или являются дефицитными по фукозе.

Одним из подходов к получению дефицитных по фукозе, модифицированных полипептидов Fc или модифицированных димеров полипептида Fc является применение аналога фукозы, такого как 2-фторфукоза (2-FF). Аналоги фукозы могут деплетировать или уменьшать доступность GDP-фукозы, которая является субстратом, необходимым для фукозилтрансфераз для включения фукозы в белки.

Альтернативный подход к генерированию дефицитных по фукозе, модифицированных полипептидов Fc или модифицированных димеров полипептида Fc,

обычно применяемых для коммерческого производства, заключается в применении линии клеток, нокаутированных по альфа-1,6-фукозилтрансферазе (FUT8), для экспрессии модифицированных полипептидов Fc или модифицированных димеров полипептида Fc. Неограничивающим примером пригодной линии FUT8 нокаутированных клеток является линия FUT8 нокаутированных клеток яичника китайского хомяка (CHO), доступная от компании Lonza Biologics. Кроме того, как описано в публикации Mori et al. (Biotechnol. Bioeng. (2004) 88: 901-908; тем самым включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте), FUT8 малая интерферирующая РНК (миРНК) может применяться для превращения клеточных линий CHO (например, путем конститутивной экспрессии миРНК FUT8) для продуцирования фукозо-дефицитных белков.

XI. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ, ВЕКТОРЫ И КЛЕТКИ-ХОЗЯЕВА

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный

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

Экспрессионные носители для продуцирования рекомбинантного полипептида включают плазмиды и другие векторы. Например, пригодные векторы включают плазмиды следующих типов: плазмиды, производные от pBR322, плазмиды, производные от pEMBL, плазмиды, производные от pEX, плазмиды, производные от pTas, и плазмиды, производные от pUC, для экспрессии в прокариотических клетках, таких как *E. coli*. Векторы, производные от pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo и pHyg, являются примерами экспрессионных векторов млекопитающих, пригодных для трансфекции эукариотических клеток. В альтернативном варианте для временной экспрессии полипептидов в эукариотических клетках можно применять производные вирусов, таких как вирус бычьей папилломы (BPV-1) или вирус Эпштейна-Барр (pHEBo, производный от pREP, и p205). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения может быть желательным экспрессировать рекомбинантный полипептид с помощью бакуловирусной экспрессионной системы. Примеры таких бакуловирусных экспрессионных систем включают векторы, производные от pVL (такие как pVL1392, pVL1393 и pVL941), векторы, производные от pAcUW (такие как pAcUW1), и векторы, производные от pBlueBac. Дополнительные экспрессионные системы включают аденовирусные экспрессионные системы, экспрессионные системы с аденоассоциированным вирусом и другие вирусные экспрессионные системы.

Векторы могут быть трансформированы в любую пригодную клетку-хозяина. В

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

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

Примеры

Следующие примеры включены для демонстрации конкретных вариантов осуществления данного изобретения. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что методики, описанные в следующих далее примерах, представляют собой методики для надлежащего функционирования при реализации данного изобретения на практике и, таким образом, могут считаться конкретными способами для его осуществления. Однако специалистам в данной области техники в свете данного описания должно быть ясно, что в конкретных описанных вариантах осуществления могут быть реализованы многие изменения без отхода от сущности и объема изобретения с получением аналогичных или сходных результатов.

Пример 1. Генерирование TfR-связывающих полипептидов

Полипептиды Fc, которые связываются с TfR, были сконструированы с применением комбинаторных библиотек в качестве специфических положений в области СНЗ и отбора этих библиотек для связывания TfR человека. Созревание аффинности исходных TfR-связывающих последовательностей приводило к идентификации специфических TfR-связывающих полипептидов Fc, например, полипептида Fc, имеющего последовательность SEQ ID NO: 66. Слитый белок "димер полипептида Fc -

Fab", содержащий димер гетеродимерного полипептида Fc, был сконструирован путем совместной экспрессии следующих трех полипептидов в соотношении 1: 1:2 соответственно. Полученный слитый белок "димер тетрамерного полипептида Fc - Fab" называется VACE1-3C.35.21

(1) Тяжелая цепь, содержащая Fab-область, шарнирную область и модифицированный полипептид Fc, слитые друг с другом в указанном порядке в тандемной серии. Fab-область содержит вариабельную область тяжелой цепи VACE1-связывающего антитела. Шарнирная область имеет последовательность SEQ ID NO: 62. Полипептид Fc имеет последовательность SEQ ID NO: 250 и содержит мутацию "выступа" (T366W согласно схеме нумерации EU) и мутации TfR-связывания.

(2) Тяжелая цепь, содержащая Fab-область, шарнирную область и модифицированный полипептид Fc, слитые друг с другом в указанном порядке в тандемной серии. Fab-область содержит вариабельную область тяжелой цепи VACE1-связывающего антитела. Шарнирная область имеет последовательность SEQ ID NO: 62. Полипептид Fc имеет последовательность SEQ ID NO: 251 и содержит мутации "впадины" (T366S, L368A и Y407V согласно схеме нумерации EU).

(3) Легкая цепь, содержащая вариабельную область легкой цепи VACE1-связывающего антитела.

ДНК, кодируемую генами для экспрессии трех указанных выше полипептидов, клонировали в экспрессионные векторы и трансфицировали в клетки ExpiCHO (Thermo Fisher Scientific) в соотношении 1:1:2 соответственно. Через 5-7 дней клетки собирали и полученный полипептид очищали с применением белка А, а затем НИС с помощью способов, известных специалисту в данной области техники. Полученный полипептид анализировали с помощью масс-спектрометрии, чтобы продемонстрировать, что после очистки отсутствуют слитые белки, имеющие гомодимерные димеры полипептида Fc (то есть димер полипептида Fc, имеющий два полипептида Fc, оба с мутацией "выступа", или димер полипептида Fc, имеющий два полипептида Fc, оба с мутациями "впадины"). Дополнительные тетрамерные полипептиды генерировали аналогичным образом.

Пример 2. Генерирование мышей с нокином апикального домена человека (мышь с нокином TfR человека (TfR^{ms/hu} KI)

Способы генерирования мышей с нокином/нокаутом были опубликованы в литературе и хорошо известны специалистам в данной области техники. Таким образом, мышью TfR^{ms/hu} KI генерировали с помощью технологии CRISPR/Cas9 для экспрессии апикального домена Tfrc человека в гене Tfrc мыши; полученный химерный TfR

экспрессировали *in vivo* под контролем эндогенного промотора. Как описано в международной патентной заявке № PCT/US2018/018302, которая в полном объеме включена в данное описание посредством ссылки, мышей C57Bl6 использовали для генерирования линии мышей с нокином апикального TfR человека посредством пронуCLEARной микроинъекции в эмбрионы из одной клетки с последующим переносом эмбриона псевдобеременным самкам. В частности, Cas9, одиночные направляющие РНК, имеющие последовательности SEQ ID NO: 264 и 265, и донорную ДНК, имеющую последовательность SEQ ID NO: 267, вводили в эмбрионы. Донорная ДНК содержала кодирующую последовательность апикального домена человека (SEQ ID NO: 266, кодон которой был оптимизирован для экспрессии в мышцах). Последовательность, кодирующая апикальный домен, была фланкирована левым (нуклеотиды 1-817 SEQ ID NO: 267) и правым плечем гомологии (нуклеотиды 1523-2329 SEQ ID NO: 267). Донорная последовательность была сконструирована таким образом, чтобы апикальный домен был вставлен после четвертого экзона мыши, и был сразу же фланкирован на 3'-конце девятым экзоном мыши. Самец-основатель из потомства самки, получившей эмбрионы, скрещивали с самками дикого типа для генерирования гетерозиготных мышей F1. Гомозиготные мыши были впоследствии сгенерированы в результате разведения гетерозиготных мышей генерации F1.

Пример 3. TfR-связывающие полипептиды Fc, имеющие мутации LALA в обоих полипептидах Fc, предотвращают деплетирование ретикулоцитов у мышей

Было продемонстрировано, что антитела, которые связываются с TfR, деплетируют как циркулирующие ретикулоциты, так и ретикулоциты костного мозга при введении мышам (см., например, Couch et al., *Sci Transl Med*, 5: 183ra57, 1-12, 2013). Генерировали слитый белок "димер полипептида Fc - Fab", являющийся аналогом BACE1-3C.35.21 и описанный в Примере 1. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab", имеющий название "BACE1-3C.35.21^{2XLALA}", содержит следующие элементы: (1) тяжелая цепь, содержащая Fab-область, имеющую переменную область тяжелой цепи BACE1-связывающего антитела, шарнирную область и модифицированный полипептид Fc, имеющий мутацию "выступа"(T366W согласно схеме нумерации EU), мутации, которые снижают эффекторную функцию (L234A и L235A согласно схеме нумерации EU), и TfR-связывающие мутации (Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 252 (клон CH3C.35.21 с мутациями выступа и LALA)); (2) тяжелая цепь, содержащая Fab-область, имеющую переменную область тяжелой цепи BACE1-связывающего антитела, шарнирную область и модифицированный полипептид Fc,

имеющий мутации "впадины" (T366S, L368A и Y407V согласно схеме нумерации EU), и мутации, которые снижают эффекторную функцию (L234A и L235A согласно схеме нумерации EU) (Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 253 (последовательность Fc человека с мутациями впадины и мутациями LALA)); и (3) две легкие цепи, каждая из которых содержит переменную область легкой цепи BACE1-связывающего антитела.

Гомозиготные мыши с нокином TfR человека (TfR^{ms/hu} KI), генерировали для оценки слитых белков "димер полипептида Fc -Fab" *in vivo*. Вкратце, эти мыши были сгенерированы так, чтобы заменить TfR мыши на апикальный домен человека / химерный белок TfR мыши (см. Пример 2). Этим мышам вводили BACE1-Fc димер^{2XLALAPG} (анти-BACE1 Fab, слитый с димером Fc, имеющим мутации LALA и мутацию P329G (согласно схеме нумерации EU)) в обоих полипептидах Fc) или BACE1-3C.35.21^{2XLALA} в дозе 25 мг/кг. Циркулирующие в системе кровообращения ретикулоциты и ретикулоциты костного мозга оценивали через 24 часа после введения с помощью анализа CBC и FACS, соответственно. Ретикулоциты костного мозга были идентифицированы как популяция Ter119⁺, hCD71^{выс} FSC и^{низк}. В соответствии с предыдущими исследованиями, слитый белок "димер полипептида Fc - Fab", имеющий название "BACE1-3C.35.21^{2XLALA}", не вызывал деплетирования ретикулоцитов *in vivo* (Фиг. 1A и 1B), аналогично димеру полипептида Fc, не связывающего TfR.

Пример 4. Конструирование TfR-связывающих полипептидов Fc, имеющих асимметричные мутации LALA

TfR высоко экспрессируется на ретикулоцитах, которые являются незрелыми эритроцитами, присутствующими как в костном мозге, так и в системе кровообращения. Ранее было продемонстрировано, что антитела к TfR с полной эффекторной функцией могут быстро деплетировать ретикулоциты как в крови, так и в костном мозге. Таким образом, деплетирование ретикулоцитов является основной проблемой безопасности для антител на основе TfR. Однако полное удаление эффекторной функции в антителах на основе TfR не является адекватным решением, потому что в некоторых случаях было бы желательно, чтобы эффекторная функция запускалась при связывании Fab, но не при связывании TfR с сконструированной TfR-связывающей Fc-областью, слитой с терапевтическим фрагментом Fab. Поскольку мутации Fc, такие как L234A и L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU, снижают связывание FcγR с димером полипептида Fc, сконструированные TfR-связывающие димеры полипептида Fc, слитые с Fab, содержащими такие мутации на обоих полипептидах Fc димера полипептида Fc, не

способны вызывать какую-либо эффекторную функцию, либо с TfR-связывающим, либо с Fab, связанным с мишенью.

Желательным является сконструированный TfR-связывающий димер полипептида Fc, слитый с терапевтическим Fab, который может вызывать эффекторную функцию, когда Fab связан с его мишенью, но не когда TfR-связывающий сайт связан с TfR. С этой целью были разработаны димеры полипептида Fc, в которых один из двух полипептидов Fc (но не другой) содержит мутации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR. Был сгенерирован ряд TfR-связывающих димеров полипептида Fc, содержащих мутации LALA в одном, обоих или ни в одном из полипептидов Fc, слитых с антигенсвязывающими Fab-областями, которые связываются с BACE1, CD20 человека (hCD20) или CD20 мыши (mCD20), как описано в Таблицах 1 и 2 ниже. В Таблице 1 описаны мутации в Fc-области каждой из двух тяжелых цепей. Во всех вариантах, описанных в Таблице 1, тяжелая цепь 1 содержит TfR-связывающий сайт и мутацию выступа T366W (согласно схеме нумерации EU) в Fc-области, а тяжелая цепь 2 содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V (согласно схеме нумерации EU) в Fc-области. Вариант zz-3C.35.21 не содержит каких-либо дополнительных мутаций в Fc-областях; вариант zz-3C.35.21^{2xLALA} содержит мутации LALA в обеих Fc-областях тяжелых цепей 1 и 2; вариант zz-3C.35.21^{cisLALA} содержит мутации LALA в той же Fc-области, что и вариант, который также содержит TfR-связывающий сайт (cisLALA или цис-конфигурация); вариант zz-3C. 35.21^{transLALA} содержит мутации LALA в Fc-области, которая не содержит TfR-связывающий сайт (transLALA или транс-конфигурация). То же относится и к варианту zz-3C.35.23, вариант zz-3C.35.23^{2xLALA}, вариант zz-3C.35.23^{cisLALA} и вариант zz-3C.35.23^{transLALA}.

В Таблице 2 перечислены SEQ ID NO для каждой тяжелой цепи и легкой цепи каждого слитого белка "димер полипептида Fc - Fab". Например, BACE1-3C.35.21^{2xLALA} содержит вариант zz-3C.35.21^{2xLALA} описанные в Таблице 1, и Fab-область, которая нацелена на BACE1.

Таблица 1. Мутации эффекторной функции в полипептидах Fc

Название варианта	Тяжелая цепь 1: TfR-связывающий Fc (выступ)	Тяжелая цепь 2: Fc (впадина)
zz-3C.35.21	Нет	Нет
zz-3C.35.21 ^{2xLALA}	LALA	LALA
zz-3C.35.21 ^{cisLALA}	LALA	Нет
zz-3C.35.21 ^{transLALA}	Нет	LALA
zz-3C.35.23	Нет	Нет

Название варианта	Тяжелая цепь 1: TfR-связывающий Fc (выступ)	Тяжелая цепь 2: Fc (впадина)
zz-3C.35.23 ^{2xLALA}	LALA	LALA
zz-3C.35.23 ^{cisLALA}	LALA	Нет
zz-3C.35.23 ^{transLALA}	Нет	LALA

Таблица 2. SEQ ID NO для слитых белков "димер полипептида Fc -Fab"

	Тяжелая цепь 1	Легкая цепь 1	Тяжелая цепь 2	Легкая цепь 2
BACE1-3C.35.21	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 250	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 251	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
BACE1-3C.35.21 ^{2xLALA}	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 252	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 253	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
BACE1-3C.35.21 ^{cisLALA}	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 252	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 251	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
BACE1-3C.35.21 ^{transLALA}	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 250	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 253	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
hCD20-3C.35.21	SEQ ID NO: 254	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 256	SEQ ID NO: 258
hCD20-3C.35.21 ^{2xLALA}	SEQ ID NO: NO: 255	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 257	SEQ ID NO: 258
hCD20-3C.35.21 ^{cisLALA}	SEQ ID NO: NO: 255	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 257	SEQ ID NO: 258

	Тяжелая цепь 1	Легкая цепь 1	Тяжелая цепь 2	Легкая цепь 2
hCD20-3C.35.21 ^{transLALA}	SEQ ID NO: 254	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 256	SEQ ID NO: 258
mCD20-3C.35.21	SEQ ID NO: 259	SEQ ID NO: 263	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 263
mCD20-3C.35.21 ^{2xLALA}	SEQ ID NO: 260	SEQ ID NO: 263	SEQ ID NO: 262	SEQ ID NO: 263
mCD20-3C.35.21 ^{cisLALA}	SEQ ID NO: 260	SEQ ID NO: 263	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 263
BACE1-3C.35.23	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 237	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 251	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
BACE1-3C.35.23 ^{2xLALA}	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 238	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 253	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
BACE1-3C.35.23 ^{cisLALA}	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 238	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 251	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
BACE1-3C.35.23 ^{transLALA}	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 237	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела	Fab-область анти-BACE1, слитая с шарнирной областью (SEQ ID NO: 62) и SEQ ID NO: 253	вариабельная область легкой цепи BACE1-связывающего антитела
hCD20-3C.35.23	SEQ ID NO: 410	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 256	SEQ ID NO: 258
hCD20-3C.35.23 ^{2xLALA}	SEQ ID NO: NO: 411	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 257	SEQ ID NO: 258

	Тяжелая цепь 1	Легкая цепь 1	Тяжелая цепь 2	Легкая цепь 2
hCD20-3C.35.23 ^{cisLALA}	SEQ ID NO: NO: 411	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 257	SEQ ID NO: 258
hCD20-3C.35.23 ^{transLALA}	SEQ ID NO: 410	SEQ ID NO: 258	SEQ ID NO: 256	SEQ ID NO: 258
mCD20-3C.35.23	SEQ ID NO: 412	SEQ ID NO: 263	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 263
mCD20-3C.35.23 ^{2xLALA}	SEQ ID NO: 413	SEQ ID NO: 263	SEQ ID NO: 262	SEQ ID NO: 263
mCD20-3C.35.23 ^{cisLALA}	SEQ ID NO: 413	SEQ ID NO: 263	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 263

Пример 5. TfR-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию, ослабляют деплетирование ретикулоцитов у мышей

Чтобы определить, может ли димер полипептида Fc, имеющий цис-конфигурацию или транс-конфигурацию, ослаблять деплетирование ретикулоцитов, авторы обрабатывали гомозиготных мышей с нокином TfR человека (TfR^{ms/ hu} KI) этими димерами полипептида Fc, а также аналогом IgG человека дикого типа (hIgG) и анализировали ретикулоциты как из периферической крови, так и из костного мозга у этих животных. Циркулирующие в системе кровообращения ретикулоциты определяли количественно из периферической крови с помощью гематологической системы Advia 120 (Advia 120 Hematology System). Вкратце, клетки окрашивали реагентом ADVIA autoRETIC и идентифицировали ретикулоциты на основании содержания РНК и дифференциального поглощения света. Для ретикулоцитов костного мозга клетки костного мозга собирали из бедренной кости каждого животного, блокировали с помощью Fc-блокатора (анти-CD16/CD32 мыши), окрашивали анти-mTer119 и анти-hCD71 и анализировали с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS). С помощью программного обеспечения FlowJo анализировали ретикулоциты как популяции mTer119⁺, hCD71^{выс} и FSC^{низк}. После анализа димер полипептида Fc, имеющий цис-конфигурацию (то есть только один полипептид Fc содержит как TfR-связывающий сайт, так и мутации LALA, в то время как другой полипептид Fc не содержит ни TfR-связывающего сайта, ни мутаций LALA), уменьшал потерю ретикулоцитов как в крови, так и в костном мозге, что в противном случае наблюдалось при применении контроля hIgG дикого типа и димера полипептида Fc, имеющем транс-конфигурацию (то есть один полипептид Fc содержит TfR-связывающий сайт, а другой полипептид Fc содержит мутации LALA). Примечательно, что димер полипептида Fc с цис-конфигурацией в дозе 25 мг/кг не характеризуется недостатком основной

безопасности, что обычно наблюдается у TfR-связывающих полипептидов с эффекторной функцией (Фиг. 2А и 2В). Кроме того, система подвергали стрессу с более высокой дозой в 50 мг/кг с применением TfR-связывающего полипептида с более низкой аффинностью к TfR. Хотя цис-конфигурация частично ослабляла потерю ретикулоцитов крови, потеря ретикулоцитов костного мозга, которая в большей степени отражает клиническую безопасность, была устранена (Фиг. 2С и 2D). С другой стороны, димер полипептида Fc, имеющий транс-конфигурацию, деплетировал ретикулоциты крови и костного мозга в той же степени, что и контрольный IgG дикого типа. Эти результаты демонстрируют, что димер полипептида Fc с цис-конфигурацией способен уменьшать потерю ретикулоцитов *in vivo*.

Пример 6. TfR-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию, ослабляют TfR-опосредованную активность ADCC *in vitro*

Было установлено, что отсутствие потери ретикулоцитов *in vivo* при применении димера полипептида Fc, имеющего цис-конфигурацию, связано с его неспособностью вызывать TfR-опосредованную ADCC. Клетки Ramos, которые экспрессируют высокие уровни TfR человека, применяли в качестве клеток-мишеней в анализе ADCC *in vitro*. Клетки-мишени высевали на планшеты в количестве 10000 клеток/лунку и опсонизировали (1) hIgG1 с TfR-связывающим сайтом, (2) hIgG1 TfR-связывающим сайтом и мутациями LALA в обоих полипептидах Fc и (3) hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющего цис-конфигурацию в течение 30 минут. Эффекторные клетки-естественные киллеры (NK) выделяли из периферической крови человека, инкубировали в течение ночи с IL-21 (20 нг/мл) и инкубировали с клетками-мишенями при соотношении эффекторные клетки : клетки-мишени 25:1 (250000 клеток/лунку) в течение 4 часов. Цитотоксичность оценивали по экспрессии LDH, нормализовали по контролю без каких-либо полипептидов и рассчитывали как процент максимального лизиса в клетках-мишенях. Поскольку эффекторные иммунные клетки, в данном случае естественные клетки-киллеры, экспрессируют FcγR, Fc-часть IgG1 дикого типа будет связываться с FcγR и запускать ответ ADCC. Действительно, hIgG1 с TfR-связывающим сайтом вызывал сильный ответ ADCC, в то время как hIgG1 с мутациями LALA в обоих полипептидах Fc и hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию, этого не осуществляли. Эти данные согласуются с данными количества ретикулоцитов *in vivo*: димер полипептида Fc, имеющий цис-конфигурацию, и димер полипептида Fc, имеющий TfR-связывающий сайт и мутации LALA на обоих полипептидах Fc (с двумя разными показателями аффинности TfR: Фиг. 3А: CH3C.35.21; Фиг. 3В: CH3C.35.23), предотвращают TfR-опосредованную

ADCC и, следовательно, уменьшают идеплетирование ретикулоцитов.

Пример 7. TfR-связывающие полипептиды предотвращают TfR-опосредованную активность CDC *in vitro*

Потеря ретикулоцитов *in vivo* под действием антител, которые связываются с TfR, также может быть обусловлена TfR-опосредованной активностью CDC. Представляет интерес тот факт, что димер полипептида Fc, который связывается с TfR, не способен вызывать CDC, вероятно, из-за своей неспособности стерически образовывать полипептидные гексамеры для запуска реакции комплемента. Клетки CHO, которые были сконструированы для сверхэкспрессии TfR (CHO-hTfR), высевали на планшеты в количестве 200000 клеток/лунку в бессывороточную среду. Клетки опсонизировали (1) контрольным hIgG, (2) Ab204 (анти-TfR-положительным контрольным антителом) и (3) hIgG1 с TfR- связывающим сайтом в течение 30 минут. 50 μ L разведенной сыворотки детеныша кролика добавляли в каждую лунку и клетки инкубировали в течение 4 часов. Цитотоксичность оценивали по экспрессии LDH, нормализовали по контролю без каких-либо полипептидов и рассчитывали как процент максимального лизиса в клетках-мишенях. Действительно, хотя анти-TfR Ab204 был способен индуцировать CDC в клетках CHO-hTfR, hIgG1 с TfR-связывающим сайтом в Fc-области не влиял на CDC (Фиг. 4).

Пример 8. TfR-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию, стимулируют активность pSyk в первичной микроглии человека

Было подтверждено, что модифицированный димер полипептида Fc обладает функциональной Fc-областью, определяемой по активности Fc γ R-индуцированной, фосфорилированной тирозинкиназы селезенки (pSYK), с применением клеток первичной микроглии человека. Fc γ R на эффекторных иммунных клетках обычно связываются с Fc-областью антитела, вызывая количество ответов, важных для функционирования врожденного иммунитета. Один из этих ответов включает сигнальный путь Syk тирозинкиназы, который играет критически важную роль в активации иммунных клеток, таких как фагоцитоз, высвобождение цитокинов и ADCC (DeFranco et al., J. of Exp Med., 1997, 186 (7): 1027-39). Когда Fc γ R иммунной клетки связываются с иммунным комплексом, иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) позволяет рекрутировать Syk-киназу и фосфорилировать киназами семейства Src, что приводит к последующим сигнальным путям, которые запускают активацию иммунных клеток (Hirose et al., J. of Biol Chem, 2004, 279: 32308-15). Таким образом, pSyk применяется в качестве считывающего элемента для Fc γ R-индуцированной активации иммунных клеток.

Микроглиальные клетки из смешанной глиальной культуры, полученной из ткани плода человека, собирали и применяли для оценки активности pSyk в клетках микроглии человека при связывании с TfR-связывающими полипептидами. Затем микроглию добавляли на 96-луночный планшет, покрытый TfR-связывающими полипептидами, инкубировали при 37°C в течение 10 минут, лизировали и количественно определяли уровни pSyk с помощью сэндвич-иммуноанализа pSyk. Даже несмотря на то, что мутация cis-LALA не вызывала TfR-опосредованной ADCC, она была способна вызывать ответ pSyk в клетках микроглии человека, сходный с ответом на пептид IgG дикого типа (примерно в 3 раза больше по сравнению с контролем мутации LALA, Фиг. 5). Этот результат демонстрирует, что модифицированный димер полипептида Fc, имеющий цис-конфигурацию, сохраняет свою функцию Fc и может иметь эффекторную функцию.

Пример 9. TfR-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию, вызывают Fab-опосредованные ADCC и CDC в клетках-мишенях

В дополнение к индукции активности pSYK оценивали способность TfR-связывающих полипептидов с цис-конфигурацией вызывать Fab-опосредованные ADCC и CDC. Клетки-мишени, которые экспрессируют CD20 мыши (клеточная линия A20), применяли для оценки Fab-опосредованной ADCC. Подобно TfR-опосредованной ADCC, описанной в Примере 8, клетки-мишени высевали на планшеты в количестве 10000 клеток/лунку, опсонизировали, инкубировали с NK-клетками при соотношении эффекторные клетки : клетки-мишени 25 : 1 и оценивали на цитотоксичность по экспрессии LDH. Клетки-мишени опсонизировали (1) контрольным hIgG, (2) антителом анти-mCD20, (3) hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом (CH3C.35,21 hIgG1: α -mCD20 (WT)) и (4) hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию, и mCD20 Fab-связывающим сайтом (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (cis-LALA)). Анализ разрабатывали для оценки исключительно связывания Fab, поскольку клетки-мишени не экспрессируют TfR человека. Сопоставимо с индукцией активности pSYK, hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию и mCD20 Fab-связывающий сайт, вызывал ADCC, сходную с той, что вызывало антитело анти-mCD20, и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом (Фиг. 6A).

В дополнение к ADCC, также оценивали CDC. Ранее было продемонстрировано, что клетки Raji являются чувствительными к анти-hCD20-опосредованной CDC; поэтому их применяли в качестве клеток-мишеней для оценки hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и hCD20 Fab-связывающим сайтом. Клетки Raji высевали на планшеты в количестве 200000 клеток/лунку в бессывороточную среду и опсонизировали (1) контрольным hIgG, (2) анти-

hCD20 антителом, (3) hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и hCD20 Fab-связывающим сайтом (CH3C.35.21 hIgG1: α -hCD20 (WT)) и (4) hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию, и hCD20 Fab-связывающим сайтом (CH3C.35.21 hIgG1: α -hCD20 (cis-LALA)) в течение 30 минут. В каждую лунку добавляли 50 мкл разведенной сыворотки детеныша кролика и клетки инкубировали в течение 4 часов. Цитотоксичность оценивали по экспрессии LDH, нормализовали по контролю без каких-либо полипептидов и рассчитывали как процент максимального лизиса в клетках-мишенях. Подобно Fab-опосредованной ADCC, hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию и hCD20 Fab-связывающий сайт, вызывал CDC в той же степени, что и анти-hCD20 и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и hCD20 Fab-связывающим сайтом (Фиг. 6B). Взятые вместе, эти функциональные анализы цитотоксичности *in vitro* демонстрируют, что hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию, не влияет на его способность вызывать Fab-опосредованную эффекторную функцию.

Пример 10. TfR-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию и mCD20 Fab-связывающий сайт, выявляют эффекторную функцию *in vivo*

Как продемонстрировано в анализе безопасности *in vivo*, hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию, уменьшал потерю ретикулоцитов при связывании с TfR. Затем авторы проанализировали, может ли эта конфигурация вызывать Fab-опосредованную эффекторную функцию *in vivo*, которая необходима для индукции терапевтического ответа. Ранее было продемонстрировано, что антитела анти-mCD20 сильно деплетируют периферические и селезеночные В-клетки *in vivo* и поэтому применяются для оценки Fab-опосредованной эффекторной функции. Способность hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющего цис-конфигурацию и mCD20 Fab-связывающий сайт, деплетировать В-клетки крови и селезенки оценивали у мышей WT и сравнивали с ответом, наблюдаемым при применении антитела анти-mCD20 и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом. Мышам WT вводили в дозе 25 мг/кг (1) контрольный IgG, (2) антитело анти-mCD20, (3) hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (WT)), (4) hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и с мутациями LALA как в полипептидах Fc, так и в mCD20 Fab-связывающем сайте (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (LALA)) и (5) hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию и mCD20 Fab-связывающий сайт (CH3C.35.21 hIgG1: α -mCD20 (cis-LALA)). Зрелые периферические В-клетки и селезеночные В-клетки оценивали в День 1 и День 5 соответственно. Вкратце, собирали периферическую кровь и селезенку. Клетки периферической крови и спленоциты

обрабатывали лизисным буфером АСК, инкубировали с блокатором Fc и окрашивали анти-B220 и анти-IgM. Зрелые В-клетки идентифицировали как популяцию B220^{выс}IgM^{выс} после анализа FACS. Сопоставимо с Fab-опосредованными анализами ADCC и CDC *in vitro*, hIgG1 с димером полипептида Fc, имеющим цис-конфигурацию и mCD20 Fab-связывающий сайт, вызывал устойчивое деплетирование В-клеток, сходное с тем, которое наблюдали при применении антитела анти-mCD20, и hIgG1 с TfR-связывающим сайтом и mCD20 Fab-связывающим сайтом (Фиг. 7А и 7В). Эти результаты демонстрируют, что модифицированный димер полипептида Fc, имеющий цис-конфигурацию, сохраняет свою функцию Fc и обладает Fab-опосредованной эффекторной функцией *in vivo*.

Пример 11. Модифицированные полипептиды Fc, которые связываются с TfR

В этом примере описаны модификации полипептидов Fc для обеспечения связывания TfR и транспорта через ГЭБ.

Если не указано иное, положения аминокислотных остатков в этом разделе нумеруются на основании схемы нумерации EU для Fc- области IgG1 дикого типа человека.

Генерирование и характеристика полипептидов Fc, содержащих модификации в положениях 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 (клоны СНЗС)

Библиотеки дрожжей, содержащие Fc-области, имеющие модификации, введенные в положения, включающие положения аминокислот 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, генерировали, как описано ниже. Иллюстративные клоны, которые связываются с TfR, приведены в Таблицах 3 и 4.

После дополнительных двух раундов сортировки сиквенировали отдельные клоны и идентифицировали четыре уникальные последовательности. Эти последовательности имели консервативный Trp в положении 388, и все имели ароматический остаток (то есть Trp, Tug или His) в положении 421. В других положениях отмечалось много разнообразия.

Четыре клон, отобранные из библиотеки, экспрессировали в виде Fc слияний с Fab фрагментами в клетках CHO или 293, очищали с помощью белка А и эксклюзионной хроматографии по размеру, а затем подвергали скринингу на предмет связывания с TfR человека в присутствии или в отсутствие holo-Tf с помощью ИФА. Все клоны связывались с TfR человека, а добавление избытка (5 мкМ) holo-Tf не влияло на связывание. Клоны также тестировали на связывание с клетками 293F, которые эндогенно экспрессируют TfR человека. Хотя клоны и связывались с клетками 293F, общее связывание было значительно слабее, чем у положительного контроля, имеющего высокую аффинность.

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

Дополнительная инженерия клонов

Генерировали дополнительные библиотеки для улучшения аффинности первичных попаданий по отношению к TfR человека с применением подхода мягкой рандомизации, в котором генерировали олиго ДНК для введения мягкого мутагенеза на основе каждого из четырех исходных попаданий. Идентифицировали и отбирали дополнительные клоны, которые связывали TfR. Отобранные клоны делятся на две основные группы последовательностей. Клоны группы 1 (то есть клоны СНЗС.18, СНЗС.21, СНЗС.25 и СНЗС.34) имели полуконсервативный Leu в положении 384, Leu или His в положении 386, консервативный и полуконсервативный Val в положениях 387 и 389, соответственно, и полуконсервативный мотив P-T-W в положениях 413, 416 и 421 соответственно. Клоны группы 2 имели консервативный Tug в положении 384, мотив TXWSX в положениях 386-390 и консервативный мотив S/T-E-F в положениях 413, 416 и 421 соответственно. Клоны СНЗС.18 и СНЗС.35 применяли в дополнительных исследованиях в качестве репрезентативных представителей каждой группы последовательностей.

Картирование эпитопов

Чтобы определить, связывались ли сконструированные Fc-области с апикальным доменом TfR, апикальный домен TfR был экспрессирован на поверхности фага. Чтобы правильно сложить и отобразить апикальный домен, одну из петель необходимо было урезать, а указанную последовательность необходимо было кругообразно переставить.

Клоны СНЗС.18 и СНЗС.35 наносили на планшеты для ИФА и следовали протоколу фагового ИФА. Вкратце, после промывки и блокирования с помощью 1% PBSA, добавляли разведения фагового дисплея и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем планшеты промывали и добавляли анти-M13-HRP, и после дополнительной промывки на планшеты наносили субстрат ТМВ и гасили с применением 2N H₂SO₄. Оба клона СНЗС.18 и СНЗС.35 связывались с апикальным доменом в этом анализе.

Картирование паратопов

Чтобы понять, какие остатки в Fc домене были наиболее важными для связывания TfR, создали серию Fc-областей мутантных клонов СНЗС.18 и СНЗС.35, в которых каждый мутант имел одно положение в TfR-связывающем регистре, мутированное обратно в дикий тип. Полученные варианты экспрессировали рекомбинантно в виде слияний Fab-Fc и тестировали на предмет связывания с TfR человека или яванского макака. Для клона СНЗС.35, положения 388 и 421 являлись важными для связывания; реверсия любого из них в дикий тип полностью устраняла связывание с TfR.

Характеризация связывания клонов созревания

ИФА-связывание проводили с очищенными вариантами слияний Fab-Fc с TfR человека или яванского макака, нанесенными на планшет, как описано выше. Варианты из библиотеки созревания клона СНЗС.18, клона СНЗС.3.2-1, клона СНЗС.3.2-5 и клона СНЗС.3.2-19, связывались с TfR человека и TfR яванского макака с приблизительно эквивалентными значениями EC₅₀, тогда как родительские клоны СНЗС.18 и СНЗС.35 характеризовались более чем в 10 раз лучшим связыванием с TfR человека по сравнению с TfR яванского макака.

Затем протестировали, интернализуются ли модифицированные Fc полипептиды в клетках человека и обезьяны. Применяя протокол, описанный выше, тестировали интернализацию в клетках HEK293 человека и в клетках LLC-MK2 макака-резуса. Варианты, которые сходным образом связывались с TfR человека и TfR яванского макака, клоны СНЗС.3.2-5 и СНЗС.3.2-19, характеризовались значительно улучшенной интернализацией в клетках LLC-MK2 по сравнению с клоном СНЗС.35.

Дополнительное конструирование клонов

Дополнительное конструирование для получения дополнительной аффинности зрелых клонов СНЗС.18 и СНЗС.35 включало в себя добавление дополнительных мутаций в положения каркаса, которые усиливали связывание посредством прямых взаимодействий, взаимодействий вторичных оболочек или стабилизации структуры.

Этого достигали с помощью генерации и отбора из библиотеки "NNK дорожка" или "NNK участок". Библиотека "NNK дорожка" включала создание поочередных NNK мутаций остатков, которые находятся близко к паратопу. При анализе структуры Fc-области, связанной с FcγRI (ID PDB: 4W4O), определено, что 44 остатка около исходных модификационных положений были идентифицированы как кандидаты на запрос. В частности, следующие остатки были нацелены на NNK мутагенез: K248, R255, Q342, R344, E345, Q347, T359, K360, N361, Q362, S364, K370, E380, E382, S383, G385, Y391, K392, T393, D399, S400, D401, S403, K409, L410, T411, V412, K414, S415, Q418, Q419, G420, V422, F423, S424, S426, Q438, S440, S442, L443, S444, P4458, G446 и K447. Библиотеки 44 отдельных точечных NNK генерировали с помощью мутагенеза по Кункелю, и продукты объединяли и вводили в дрожжи посредством электропорации, как описано выше для других библиотек дрожжей.

Комбинация этих мини-библиотек (каждая из которых имела одно мутированное положение, что привело к появлению 20 вариантам) генерировала небольшую библиотеку, которая была отобрана с помощью системы поверхностного дрожжевого дисплея для любых положений, что приводит к более высокой аффинности связывания. Отборы выполняли, как описано выше, с применением белков апикального домена TfR. После трех циклов сортировки, клоны из обогащенной библиотеки дрожжей секвенировали, и идентифицировали несколько положений "горячих точек", в которых определенные точечные мутации значительно улучшали связывание с белками апикального домена. Для клона СНЗС.35, эти мутации включали E380 (мутированный в Trp, Tyr, Leu или Gln) и S415 (мутированный в Glu). Последовательности одиночных мутантов клона СНЗС.35 приведены в SEQ ID NO: 21-23, 64-69 и 125-127. Для клона СНЗС.18, эти мутации включали E380 (мутированный в Trp, Tyr или Leu) и K392 (мутированный в Gln, Phe или His). Последовательности одиночных мутантов клона СНЗС.18 приведены в SEQ ID NO: 70-75.

Дополнительные библиотеки созревания для улучшения аффинности клона СНЗС.35

Для идентификации комбинаций мутаций из библиотеки "NNK дорожка" генерировали дополнительную библиотеку с добавлением нескольких дополнительных положений на их периферии, как описано выше для библиотек дрожжей. В этой библиотеке мотивы YxTEWSS (SEQ ID NO: 414) и TxxExxxxF (SEQ ID NO: 415) оставались константными, а шесть положений были полностью рандомизированы: E380, K392, K414, S415, S424 и S426. Положения E380 и S415 были включены, потому что они

были "горячими точками" в библиотеке "NNK дорожка". Положения K392, S424 и S426 были включены, потому что они составляют часть ядра, которая может позиционировать область связывания, в то время как K414 был выбран из-за его смежности с положением 415.

Эта библиотека была отсортирована, как описано выше, только с апикальным доменом Tfr яванского макака. Обогащенный пул секвенировали после пяти циклов, при этом последовательности модифицированных областей идентифицированных уникальных клонов представлены в SEQ ID NO: 76-93.

Следующие библиотеки были предназначены для дальнейшего изучения всего приемлемого разнообразия в основном связывающем паратопе. Каждое из исходных положений (384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421) плюс две горячие точки (380 и 415) были индивидуально рандомизированы с кодонами NNK для генерации серии библиотек насыщающего мутагенеза в одном положении на дрожжах. Кроме того, каждое положение было индивидуально реверсировано в остаток дикого типа, и эти отдельные клоны были отображены на дрожжах. Было отмечено, что положения 380, 389, 390 и 415 были единственными положениями, которые сохраняли существенное связывание с Tfr при реверсии в остаток дикого типа (некоторое остаточное, но сильно уменьшенное связывание наблюдалось при реверсии положения 413 в дикий тип).

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

Положение 380: Trp, Leu или Glu;

Положение 384: Tyr или Phe;

Положение 386: только Thr;

Положение 387: только Glu;

Положение 388: только Trp;

Положение 389: Ser, Ala или Val (хотя остаток Asp дикого типа, похоже, сохраняет некоторое связывание, он не появился после сортировки библиотеки);

Положение 390: Ser или Asn;

Положение 413: Thr или Ser;

Положение 415: Glu или Ser;

Положение 416: только Glu; и

Положение 421: только Phe.

Указанные выше остатки при замещении в клоне CH3C.35 в виде единичных изменений или в комбинациях представляют паратопическое разнообразие, которое сохраняет связывание с апикальным доменом Tfr. Клоны, имеющие мутации в этих положениях, включают те, которые показаны в Таблице 4, и последовательности доменов CH3 этих клонов приведены в SEQ ID NO: 65-69, 92, 94-124 и 268-274.

Пример 12. Способы

Генерирование библиотек фагового дисплея

ДНК-матрицу, кодирующую Fc последовательность дикого типа человека, синтезировали и включали в фагмидный вектор. Указанный фагмидный вектор содержал лидерную последовательность *ompA* или *relB*, Fc вставку, слитую с метками эпитопа с-Мус и 6xHis (SEQ ID NO:421), и амбер стоп-кодон, за которым следовал M13 белок оболочки рIII.

Генерировали праймеры, содержащие трикодны «NNK» в желаемых положениях для модификаций, где N представляет собой любое основание ДНК (то есть A, C, G или T), а K представляет собой либо G, либо T. В альтернативном варианте применяли праймеры для "мягкой" рандомизации, при этом смесь оснований, соответствующих 70% основания дикого типа и 10% каждого из трех других оснований, применяли для каждого рандомизационного положения. Библиотеки генерировали путем проведения ПЦР-амплификации фрагментов Fc области, соответствующих областям рандомизации, а затем собирали с применением конечных праймеров, содержащих сайты рестрикции SfiI, затем расщепляли с помощью SfiI и лигировали в фагмидные векторы. В альтернативном варианте указанные праймеры применяли для проведения мутагенеза по Кункелю. Лигированные продукты или продукты Кункеля трансформировали в электрокомпетентные клетки *E. coli* штамма TG1 (полученные от компании Lucigen®). Указанные клетки *E. coli* инфицировали фагом-хелпером M13K07 после восстановления и выращивали в течение ночи, после чего фаг из библиотеки осаждали с помощью 5% PEG/NaCl, ресуспендировали в 15% глицерине в PBS и замораживали до применения. Типовые размеры библиотек варьировались от 10^9 до около 10^{11} трансформантов. Fc-димеры отображались на фаге посредством спаривания между рIII-слитым Fc и растворимым Fc, не связанным с рIII (последний генерируется из-за амбер стоп-кодона перед рIII).

Генерирование библиотек дрожжевого дисплея

ДНК-матрицу, кодирующую Fc последовательность дикого типа человека, синтезировали и включали в вектор дрожжевого дисплея. Для библиотек CH2 и CH3, Fc полипептиды отображались на белке клеточной стенки Aga2p. Оба вектора содержали препро-лидерные пептиды с последовательностью расщепления Kex2, и метку эпитопа с-Мус, слитую с концом Fc.

Библиотеки дрожжевого дисплея формировали с помощью способов, аналогичных описанным для фаговых библиотек, за исключением того, что амплификацию фрагментов проводили с праймерами, содержащими гомологичные концы для вектора. Свежеприготовленные электрокомпетентные дрожжи (то есть штамм EBY100) подвергали электропорации с линейаризованным вектором и вставками сформированной библиотеки. Способы электропорации будут известны специалисту в данной области техники. После восстановления в селективной среде SD-CAA, дрожжи выращивали до слияния и дважды разделяли, затем индуцировали для экспрессии белка путем переноса в среду SG-CAA. Типовые размеры библиотек варьировались от 10^7 до около 10^9 трансформантов. Fc-димеры образовывали путем спаривания смежно отображаемых Fc мономеров.

Общие способы для отбора фагов

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

Способы сортировки планшетов

Мишень TfR человека наносили на планшеты для микротитрования MaxiSorp[®] (обычно 200 мкл в концентрации 1-10 мкг/мл в PBS) в течение ночи при 4 °C. Весь этап связывания осуществлялся при комнатной температуре, если не указано иное. Фаговые библиотеки добавляли в каждую лунку и инкубировали в течение ночи для связывания. Микротитровальные лунки тщательно промывали PBS, содержащим 0,05% Tween[®] 20 (PBST), и связанный фаг элюировали путем инкубации лунок с кислотой (обычно 50 mM HCl с 500 mM KCl или 100 mM глицина, pH 2,7) в течение 30 минут. Элюированный фаг нейтрализовали с применением 1 M трис (pH 8) и амплифицировали, используя клетки TG1 и фаг-хелпер M13/KO7, и выращивали в течение ночи при 37 °C в среде 2YT, содержащей 50 мкг/мл карбенациллина и 50 мкг/мл канамицина. Титры фагов, элюированных из лунки, содержащей мишень, сравнивали с титрами фагов, извлеченных из лунки, не содержащей мишень, для оценки обогащения. Жесткость отбора повышали путем последовательного уменьшения периода времени инкубации во время связывания и увеличения периода времени промывок и количества промывок.

Способы сортировки гранул

Антиген биотинилировали через свободные амины с применением NHS-PEG4-биотина (полученного от компании Pierce™). Для реакций биотинилирования применяли 3-5-кратный молярный избыток биотинового реагента в PBS. Реакции гасили с применением Трис с последующим экстенсивным диализом в PBS. Биотинилированный антиген иммобилизовали на магнитных гранулах покрытых стрептавидином, (то есть M280-стрептавидиновые гранулы, полученные от компании Thermo Fisher). Библиотеки фагового дисплея инкубировали с гранулами, покрытыми антигеном, при комнатной температуре в течение 1 часа. Несвязанный фаг затем удаляли, и гранулы промывали с помощью PBST. Связанный фаг элюировали путем инкубации с 50 mM HCl, содержащей 500 mM KCl (или 0,1 M глицин, pH 2,7), в течение 30 минут, а затем нейтрализовали и размножали, как описано выше для сортировки планшетов.

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

Общие способы для отбора дрожжей

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

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

Способы сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS)

Дрожжи метили анти-с-Мус-антителом для мониторинга экспрессии и биотинилированный антигеном (концентрация варьировалась в зависимости от цикла сортировки). В некоторых экспериментах антиген предварительно смешивали со стрептавидином-Alexa Fluor[®] 647 для того, чтобы повысить avidность взаимодействия. В других экспериментах биотинилированный антиген обнаруживали после связывания и промывания с применением стрептавидина-Alexa Fluor[®] 647. Синглетные дрожжи со связыванием сортировали с помощью сортировщика клеток FACS Aria III. Сортированные дрожжи выращивали в селективных средах, затем индуцировали для последующих циклов отбора.

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

Общие способы для скрининга

Скрининг с помощью ИФА

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

Планшеты для ИФА покрывали антигеном, обычно в концентрации 0,5 мг/мл в течение ночи, затем блокировали с применением 1% BSA перед добавлением фага или периплазматических экстрактов. После 1-часовой инкубации и вымывания несвязанного белка добавляли конъюгированное с HRP вторичное антитело (то есть анти-Fc или анти-M13 для растворимого Fc или отображаемого на фаге Fc) и инкубировали в течение 30 минут. Планшеты снова промывали и затем обрабатывали реагентом TMB и гасили 2N серной кислотой. Поглощение при 450 нм определяли количественно с помощью

планшет-ридера (BioTek®), и получали кривые связывания с помощью программного обеспечения Prism, где это было применимо. Сигнал поглощения для тестируемых клонов сравнивали с отрицательным контролем (фаг или параплазматический экстракт без Fc). В некоторых анализах растворимый трансферрин или другой конкурирующий агент добавляли в ходе этапа связывания, обычно при значительном молярном избытке (более чем в 10-кратном избытке).

Скрининг с помощью проточной цитометрии

Вариантные полипептиды Fc (экспрессируемые на фаге, в периплазматических экстрактах или растворимые в виде слияний с Fab фрагментами) добавляли к клеткам в 96-луночных V-образных планшетах (около 100000 клеток на лунку в PBS + 1% BSA (PBSA)), и инкубировали при 4 °C в течение 1 часа. Затем планшеты центрифугировали и среду удаляли, после чего клетки один раз промывали с применением PBSA. Клетки ресуспендировали в PBSA, содержащем вторичное антитело (как правило, козье антитело против IgG человека Alexa Fluor® 647 (полученное от компании Thermo Fisher)) Через 30 минут планшеты центрифугировали и среду удаляли, клетки промывали 1-2 раза с применением PBSA, а затем планшеты считывали на проточном цитометре (то есть на проточном цитометре FACSCanto™ II). Медианные значения флуоресценции рассчитывали для каждого условия с помощью программного обеспечения FlowJo, а кривые связывания наносили с помощью программного обеспечения Prism.

Пример 13. Конструкция вариантов CH3C.18

Этот пример описывает конструкцию библиотеки вариантов CH3C.18.

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

Таблице 5 приведена библиотека вариантов СНЗС.18. Каждая строка представляет вариант, который содержит указанные аминокислотные замены в каждом положении, а аминокислоты в остальных положениях являются такими же, как в СНЗС.18. Положения, приведенные в Таблице 5, пронумерованы в соответствии со схемой нумерации EU.

Таблица 5. Варианты СНЗС.18

Положение	384	386	387	389	390	391	413	416	421
Fc дикого типа	N	Q	P	N	N	Y	D	R	N
СНЗС.4 (СНЗС.18.1)	V	T	P	A	L	Y	L	E	W
СНЗС.2 (СНЗС.18.2)	Y	T	V	S	H	Y	S	E	Y
СНЗС.3 (СНЗС.18.3)	Y	T	E	S	Q	Y	E	D	H
СНЗС.1 (СНЗС.18.4)	L	L	V	V	G	Y	A	T	W
СНЗС.18 (СНЗС.18.1.18)	L	H	V	A	V	Y	P	T	W
СНЗС.3.1-3 (СНЗС.18.3.1-3)	L	H	V	V	A	T	P	T	W
СНЗС.3.1-9 (СНЗС.18.3.1-9)	L	P	V	V	H	T	P	T	W
СНЗС.3.2-1 (СНЗС.18.3.2-1)	L	H	V	V	N	F	P	T	W
СНЗС.3.2-5 (СНЗС.18.3.2-5)	L	H	V	V	D	Q	P	T	W
СНЗС.3.2-19 (СНЗС.18.3.2-19)	L	H	V	V	N	Q	P	T	W
СНЗС.3.4-1 (СНЗС.18.3.4-1)	W	F	V	S	T	T	P	N	F
СНЗС.3.4-19 (СНЗС.18.3.4-19)	W	H	V	S	T	T	P	N	Y
СНЗС.3.2-3 (СНЗС.18.3.2-3)	L	H	V	V	E	Q	P	T	W
СНЗС.3.2-14 (СНЗС.18.3.2-14)	L	H	V	V	G	V	P	T	W
СНЗС.3.2-24 (СНЗС.18.3.2-24)	L	H	V	V	H	T	P	T	W
СНЗС.3.4-26 (СНЗС.18.3.4-26)	W	T	V	G	T	Y	P	N	Y
СНЗС.3.2-17 (СНЗС.18.3.2-17)	L	H	V	V	G	T	P	T	W

Пример 14. Tfr-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию, и Fab, которые связывают амилоидный белок бета (A β), эффективно проникают через ГЭБ и демонстрирует надежную эффекторную функцию, приводя к вовлечению микроглии в A β -бляшки и уменьшению бляшек в модели A β бляшки мыши

Чтобы предоставить дополнительные доказательства того, что Tfr-связывающие полипептиды, имеющие цис-конфигурацию, можно применять в терапевтически релевантной модели заболевания, авторы оценили Tfr-связывающие полипептиды Fc, имеющие цис-конфигурацию, обладающие Fab, которые связывают A β , в мышинной модели с отложением A β бляшек. В частности, эти полипептиды были оценены на способность вовлекать микроглию в A β бляшки. Вкратце, животные (в возрасте 3,5 месяца) получали препарат внутривенно в дозе 50 мг/кг в Дни 0, 3, 6 и 9 в следующих группах: 1) мыши Tfr^{ms/hu} KI, получавшие контрольный IgG (n = 6), 2) мыши 5XFAD x Tfr^{ms/hu} KI, получавшие контрольный IgG (n = 11), 3) мыши 5XFAD x Tfr^{ms/hu} KI, получавшие анти-A β (α -A β) (n = 12), 4) 5XFAD x Tfr^{ms/hu} KI мыши, получавшие Tfr-связывающие полипептиды Fc, имеющие цис-конфигурацию и сайт связывания A β Fab (n = 12), и 5) мыши 5XFAD x Tfr^{ms/hu} KI, получавшие Tfr-связывающие полипептиды Fc,

имеющими мутации LALA на обоих полипептидах Fc (n = 12). В Таблице 6 перечислены SEQ ID NO для каждой тяжелой цепи и легкой цепи каждого слитого белка "димер полипептида Fc - Fab".

Таблица 6. SEQ ID NO для слитых белков "димер полипептида Fc -Fab"

	Тяжелая цепь 1	Легкая цепь 1	Тяжелая цепь 2	Легкая цепь 2
полипептиды анти-Аβ- Fc	SEQ ID NO: 416 (анти-Аβ Fab-область, слитая с шарнирной областью и Fc-полипептидом человека дикого типа)	SEQ ID NO: 420 (легкая цепь анти-Аβ Fab-области)	SEQ ID NO: 416 (анти-Аβ Fab-область, слитая с шарнирной областью и Fc-полипептидом человека дикого типа)	SEQ ID NO: 420 (легкая цепь анти-Аβ Fab-области)
анти-Аβ- 3C.35.23.4 ^{2xLALA}	SEQ ID NO: 417 (анти-Аβ Fab-область, слитая с шарнирной областью и 3C.35.23.4 с мутациями выступа и LALA)	SEQ ID NO: 420 (легкая цепь анти-Аβ Fab-области)	SEQ ID NO: 418 (анти-Аβ Fab-область, слитая с шарнирной областью и Fc с мутациями впадины и LALA)	SEQ ID NO: 420 (легкая цепь анти-Аβ Fab-области)
анти-Аβ- 3C.35.23.4 ^{cisLALA}	SEQ ID NO: 417 (анти-Аβ Fab-область, слитая с шарнирной областью и 3C.35.23.4 с мутациями выступа и LALA)	SEQ ID NO: 420 (легкая цепь анти-Аβ Fab-области)	SEQ ID NO: 419 (анти-Аβ Fab-область, слитая с шарнирной областью и Fc с мутациями впадины)	SEQ ID NO: 420 (легкая цепь анти-Аβ Fab-области)

На День 12 мышей перфузировали; головной мозг собирали и делали сагиттальные срезы толщиной 40 мкм для иммуногистохимии. Для анализа ИГХ были отобраны два среза мозга (срез 1: ~ 3 мм латерально от средней линии, срез 2: по средней линии) на одно животное. Свободно плавающие срезы инкубировали в блокирующем растворе (5% сыворотки осла в PBS с 0,3% тритона X-100) в течение двух часов при комнатной температуре, затем с первичными антителами (анти-CD68, античеловеческое антитело Abeta) в течение ночи при 4 °C. Затем срезы промывали 3 раза в течение 15 минут, инкубировали с мечеными флуоресценцией вторичными антителами в течение 2 часов при комнатной температуре, раствором DAPI в течение 20 минут и затем 3 раза промывали в PBS с 0,3% тритона X-100. Срезы закрепляли на предметных стеклах и покрывали заливочной средой Prolong Glass Antifade. Предметные стекла

визуализировали с помощью сканера для предметных стекол Zeiss Axioscan.Z1 с 20-кратным увеличением и обрабатывали с применением пользовательских макросов в программном обеспечении Zeiss ZEN и макросах об обработки изображений. В частности, изображения анализировали для определения площади расширенной бляшки (по размеру), площади перекрытия "бляшка/ CD68 микроглия", площади расширенной микроглии CD68⁺, количества и суммы пиксельной интенсивности (по размеру: 9-14 мкм², 14-33 мкм², 33 - 75 мкм² и 75-3333 мкм²), а также морфологии, площади, количества бляшек и суммы пиксельной интенсивности (отделение циркулярных от нерегулярных бляшек с применением показателя компактности < 0,7 для нерегулярных бляшек и > 0,7 для циркулярных бляшек; разделение по размеру: 30-125 мкм², 125-250 мкм², 250-500 мкм² и 500-3300 мкм²).

В результате этих экспериментов мыши 5XFAD x Tfr^{ms/lu} KI, получавшие анти-Aβ, имеющее Tfr-связывающий сайт с димером полипептида Fc cis-LALA, вызывали устойчивое вовлечение микроглии в бляшки Aβ (что измеряли колокализацией маркера микроглии CD 68 и Aβ маркером) и уменьшение меньшей бляшки размером 30-125 мкм², в способ, аналогичный анти-Aβ (Фиг. 8A-8C). Важно отметить, что эти эффекты не наблюдались для анти-Aβ, имеющего Tfr-связывающий сайт с мутациями LALA на обоих полипептидах Fc, что согласуется с необходимостью эффекторной функции в парадигме этого заболевания. В целом, эти данные, наряду с другими данными *in vitro* и *in vivo*, представленными в данном документе, предоставляют убедительные доказательства того, что платформенная основа Tfr-связывающих полипептидов Fc с конфигурацией cis-LALA и соответствующим сайтом связывания Fab может митигировать безопасность со стороны ретикулоцитов, а также проявлять цель-опосредованную эффекторную функцию в соответствующей модели заболевания (то есть вовлечение микроглии в головной мозг).

Следует понимать, что примеры и варианты осуществления изобретения, описанные в данном документе, предназначены только для иллюстративных целей и различные модификации или изменения в свете этого будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу применения данной заявки и объем прилагаемой формулы изобретения. Последовательности порядковых номеров доступа, приведенные в данном документе, включены в это описание посредством ссылки.

Если не указано иное, все технические и научные термины, применяемые в данном описании, имеют такое же значение, которое обычно подразумевается специалистом в области техники, к которой относится данное изобретение.

Изобретение, иллюстративно описанное в данном документе, может быть соответствующим образом осуществлено при отсутствии какого-либо элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно не описанных в данном документе. Таким образом, например, термины "содержащий", "включающий", "содержит" и т.д. следует понимать в широком смысле и без ограничений. Кроме того, термины и выражения в данном документе применялись в качестве описательных, а не ограничительных терминов, и при применении таких терминов и выражений не было намерений исключать какие-либо эквиваленты продемонстрированных и описанных признаков или их частей, но следует понимать, что возможны различные модификации в пределах объема заявленного изобретения.

Аминокислотные замены для каждого клона, описанного в таблицах (например, Таблицы 3 и 4), диктуют аминокислотные замены в положениях регистра этого клона по аминокислотам, обнаруженным в последовательности, указанной в Перечне последовательностей, в случае расхождений.

Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, прямо включены посредством ссылки в полном объеме в той же степени, как если бы каждая из них была включена посредством ссылки в отдельности. В случае противоречия, данное описание, включая определения, будет иметь преимущественную силу.

Таблица 3. Положения и мутации регистра СНЗС

Название клона	Группа	384	385	386	387	388	389	390	391	...	413	414	415	416	417	418	419	420	421
Дикий тип	н/д	N	G	Q	P	E	N	N	Y	...	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N
1		L	G	L	V	W	V	G	Y	...	A	K	S	T	W	Q	Q	G	W
2		Y	G	T	V	W	S	H	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	Y
3		Y	G	T	E	W	S	Q	Y	...	E	K	S	D	W	Q	Q	G	H
4		V	G	T	P	W	A	L	Y	...	L	K	S	E	W	Q	Q	G	W
17	2	Y	G	T	V	W	S	K	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
18	1	L	G	H	V	W	A	V	Y	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
21	1	L	G	L	V	W	V	G	Y	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
25	1	M	G	H	V	W	V	G	Y	...	D	K	S	T	W	Q	Q	G	W
34	1	L	G	L	V	W	V	F	S	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
35	2	Y	G	T	E	W	S	S	Y	...	T	K	S	E	W	Q	Q	G	F
44	2	Y	G	T	E	W	S	N	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
51	1/2	L	G	H	V	W	V	G	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	W
3.1-3	1	L	G	H	V	W	V	A	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.1-9	1	L	G	P	V	W	V	H	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-5	1	L	G	H	V	W	V	D	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-19	1	L	G	H	V	W	V	N	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-1	1	L	G	H	V	W	V	N	F	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.4-1		W	G	F	V	W	S	T	Y	...	P	K	S	N	W	Q	Q	G	F
3.4-19		W	G	H	V	W	S	T	Y	...	P	K	S	N	W	Q	Q	G	Y
3.2-3		L	G	H	V	W	V	E	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-14		L	G	H	V	W	V	G	V	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-24		L	G	H	V	W	V	H	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.4-26		W	G	T	V	W	G	T	Y	...	P	K	S	N	W	Q	Q	G	Y
3.2-17		L	G	H	V	W	V	G	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W

Таблица 4. Дополнительные положения и мутации регистра СНЗС

Название клона	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
Дикий тип	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F
35.20.1	F	.	T	E	W	S	S	T	.	E	E	F	.	.
35.20.2	Y	.	T	E	W	A	S	T	.	E	E	F	.	.
35.20.3	Y	.	T	E	W	V	S	T	.	E	E	F	.	.
35.20.4	Y	.	T	E	W	S	S	S	.	E	E	F	.	.
35.20.5	F	.	T	E	W	A	S	T	.	E	E	F	.	.
35.20.6	F	.	T	E	W	V	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.a.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.a.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.a.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.a.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	S	.	E	E	F	.	.
35.21.a.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.a.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	T	.	E	E	F	.	.
35.23.1	F	.	T	E	W	S	T	.	E	E	F	.	.
35.23.2	Y	.	T	E	W	A	T	.	E	E	F	.	.
35.23.3	Y	.	T	E	W	V	T	.	E	E	F	.	.
35.23.4	Y	.	T	E	W	S	S	.	E	E	F	.	.
35.23.5	F	.	T	E	W	A	T	.	E	E	F	.	.
35.23.6	F	.	T	E	W	V	T	.	E	E	F	.	.
35.24.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	T	.	E	E	F	.	.
35.24.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	T	.	E	E	F	.	.
35.24.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	T	.	E	E	F	.	.
35.24.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	E	E	F	.	.
35.24.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	T	.	E	E	F	.	.
35.24.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	T	.	E	E	F	.	.
35.21.17.1	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.17.2	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.17.3	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.17.4	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	S	.	E	E	F	.	.
35.21.17.5	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.17.6	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	T	.	E	E	F	.	.
35.20	Y	.	T	E	W	S	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	T	.	E	E	F	.	.
35.22	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	T	.	.	E	F	.	.
35.23	Y	.	T	E	W	S	T	.	E	E	F	.	.
35.24	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	T	.	E	E	F	.	.
35.21.17	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	T	.	E	E	F	.	.
35.N390	Y	.	T	E	W	S	T	.	.	E	F	.	.
35.20.1.1							F		T	E	W	S	S					S		E	E					F		
35.23.2.1							Y		T	E	W	A						S			E					F		
35.23.1.1							F		T	E	W	S						S		E	E					F		
35.S413							Y		T	E	W	S	S					S			E					F		

Название клона	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
35.23.3.1							Y		T									S		E	E					F		
35.N390.1							Y		T	E	W	S						S		E	E					F		
35.23.6.1							F		T	E	W	V						S		E	E					F		

Перечень последовательностей без соблюдения формальных требований

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
1	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc человека дикого типа
2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK	Последовательность домена CH2
3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность домена CH3
4	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGLVWVGKYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVAKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.1
5	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTVWVSHYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGYVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.2
6	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTVEWSQYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VEKSDWQQGHVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3
7	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESVGTWALYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VLKSEWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.4
8	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTVWSKYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.17
9	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
10	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGLVWVGYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.21
11	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESMGHVWVGYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.25
12	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGLVWVFSKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.34
13	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKSEWQQGFVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35
14	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWSSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKSEWQQGFVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.44
15	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVGYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.51
16	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVATKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.1-3
17	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGPVWVHTKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.1-9
18	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVDQKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.2-5

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
19	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNQKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.2-19
20	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNFKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.2-1
21	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.E15 3W (CH3C.35.13)
22	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYQTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.K16 5Q (CH3C.35.14)
23	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESLGHVWAVYQTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18.E15 3W. K165Q (CH3C.35.15)
24	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.E15 3W (CH3C.35.19)
25	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.S18 8E (CH3C.35.20)
26	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.E15 3W. S188E (CH3C.35.21)
27	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35. N163

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
28	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWEWSSYQTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKSEWQQGQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35. K165Q
29	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWEWSNYQTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKSEWQQGQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35. N163. K165Q
30	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESXGXXXXXYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVXKXXWQQGXVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Библиотека CH3C (X обозначает рандомизи- рованное аминокис- лотное положение)
31	NSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKK DFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTK FPIVNAELSFHGHHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQ TISRAAAELKFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSEKSNVKLTVS	Апикальный домен TfR человека
32	NSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKK DFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTK FPIVKADLSFHGHHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPV QTISRAAAELKFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVS	Апикальный домен TfR яванского макака
33	SSGLPNIPVQTISRAAAELKFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSE KNVKLTVSNDQAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATV TGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESL NAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSGP	Апикальный домен TfR человека с усеченной петлей, отображенны й на фаге
34	SSGLPNIPVQTISRAAAELKFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSEN KSVKLTVSNDQAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATV TGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESL NAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSGP	Апикальный домен TfR яванского макака с усеченной петлей, отображен- ный на фаге
35	WESXGXXXXXYK	Первая часть регистра CH3C
36	TVXKXXWQQGXV	Вторая часть регистра CH3C

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
37	YGTEW	Консервативная последовательность СНЗС
38	LGLVWVG	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
39	YGTVWSH	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
40	YGTEWSQ	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
41	VGTPWAL	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
42	YGTVWSK	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
43	LGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
44	MGHVWVG	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
45	LGLVGVF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
46	YGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
47	YGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
48	LGHVWVG	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
49	LGHVWVA	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
50	LGPVWVH	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
51	LGHVWVD	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
52	LGHVWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
53	AKSTWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
54	SKSEWQQGY	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
55	EKSDWQQGH	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
56	LKSEWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
57	SKSEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
58	PKSTWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
59	DKSTWQQGW	Модифицированная последовательность связывания CH3C
60	TKSEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания CH3C
61	SKSEWQQGW	Модифицированная последовательность связывания CH3C
62	EPKSCDKTHTCPPCP	Аминокислотная последовательность шарнира IgG1 человека
63	MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLA VDE EENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCK GVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKL DSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQDENLALYVENQFREFKLSK VWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSK AATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVA NAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAEL SFFGHAHLGTGDPYTPGFPS FNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDS TCRMVTSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGA QRD AWGPGA AKSGVGT ALLKLA QMFSDMVLK DGFQPSRSIIFAS WSAGDFG SVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVS ASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAA FPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVAR AAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIK EMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDR VMRVEYHFLSPYVSPKESPFRRHVF WSGSHTLPALLENLKL RKQN NGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF	Белок 1 трансферринового рецептора человека (TFR1)
64	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESYGT EWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKSEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.19

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
65	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20
66	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21
67	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.22
68	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23
69	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24
70	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CH3C.18 вариант
71	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CH3C.18 вариант
72	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESLGHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CH3C.18 вариант
73	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYQTTPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CH3C.18 вариант

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
74	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYFTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWFVSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CH3C.18 вариант
75	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYHTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWFVSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CH3C.18 вариант
76	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKSEWQQGFVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1
77	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKSEWQQGFVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.2
78	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTREEWQQGFVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.3
79	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTGEEWQQGFVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.4
80	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTREEWQQGFVFCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.5
81	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.6
82	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTREEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.7

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
83	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTREEWQQGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.8
84	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTREEWQQGFVFECWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.9
85	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTREEWQQGFVFKCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 10
86	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTPEEWQQGFVFKCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 11
87	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTREEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 12
88	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTGEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 13
89	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTREEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 4
90	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTGEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 5
91	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTREEWQQGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 16

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
92	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17
93	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 18
94	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1
95	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWASYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.2
96	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.3
97	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.4
98	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWASYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.5
99	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.6
100	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a. 1

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
101	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWASVKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a. 2
102	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWVSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a. 3
103	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a. 4
104	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWWEWESFGTEWASVKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a. 5
105	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWWEWESFGTEWVSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a. 6
106	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1
107	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2
108	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3
109	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
110	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWANYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.5
111	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.6
112	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESFGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.1
113	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWANYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.2
114	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.3
115	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.4
116	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESFGTEWANYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.5
117	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVWESFGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.6
118	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17.1

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
119	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17.2
120	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17.3
121	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17.4
122	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17.5
123	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21. 17.6
124	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKSEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35. N390
125	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESLGHVWVNQKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.16
126	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNQQTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.17
127	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESLGHVWVNQQTPPVLDSDGSFFLYSKL TVPKSTWQQGWVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.18

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
128	MMDQARS AFSN LFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVDE EENTDNNTKANGTKPKRCGGNICYGTIAVIIFFLIGFMIGYLG YCK GVEPKTECERLAGTESPAREEPEEDFPAAPRL YWDDLKRKLSEKL DTTDFSTIKLLNENLYVPREAGSQDENLALYIENQFREFKLSKV WRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYS KA ATVTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVAN AESLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSF NHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPSDWKTDST CKMVTSENKSVKLT VSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGA QRDAWGPGA AKSSVGTALLLKL AQMFS DMVLK DGFQPSRSIIFAS WSAGDFG SVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGT SNFKVS ASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSNWASKVEKLTLDNAA FPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKVA RAAAEVAGQFVIKLT HDTELNDYERYNSQLLFLRDLNQYRAD VKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFR NAEKRDKFVMKKLN DRVMRVEYYFLSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLSALLESLKLR QNNSAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF	TfR яванского макака
129	MGWSCILFLVATATGAYAGTSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNME GDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLT VSNDSAQNSVIIVDKNGRL VYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGS IVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSASHH HHHH	His-меченный апикальный домен TfR с перестанов- ками
130	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDKTHTCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SLGHVWAVYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Экспрес- сированная CH3C.18 Fc последова- тельность
131	EWESFGTEWSS	Модифици- рованная последова- тельность связывания CH3C
132	EWESYGTEWAS	Модифици- рованная последова- тельность связывания CH3C
133	EWESYGTEWVS	Модифици- рованная последова- тельность связывания CH3C

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
134	EWESYGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
135	EWESFGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
136	EWESFGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
137	WWESFGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
138	WWESYGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
139	WWESYGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
140	WWESYGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
141	WWESFGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
142	WWESFGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
143	EWESFGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
144	EWESYGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
145	EWESYGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
146	EWESYGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
147	EWESFGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
148	EWESFGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
149	WWESFGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
150	WWESYGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
151	WWESYGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
152	WWESYGTEWSN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
153	WWESFGTEWAN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
154	WWESFGTEWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
155	LWESFGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
156	LWESYGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
157	LWESYGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
158	LWESYGTEWSS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
159	LWESFGTEWAS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
160	LWESFGTEWVS	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
161	WWESLGHWAV	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
162	EWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
163	LWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
164	YWESLGHVWAV	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
165	EWESLGLVWVF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
166	WWESLGHVWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
167	EWESLGHVWVN	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
168	TKEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
169	SKEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
170	PKTSWQQGW	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
171	TREEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
172	TPEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
173	TGEEWQQGF	Модифицированная последовательность связывания СНЗС
174	TVXKXXWQQGXV	Вторая часть регистра СНЗС
175	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СНЗС.35.8 (Клон СНЗС.35.20 с мутациями YTE и LALAPG)
176	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон СНЗС.35.9 (Клон СНЗС.35.21 с мутациями YTE и LALAPG)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
177	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутацией выступа
178	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа и LALA
179	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа и LALAPG
180	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа и YTE
181	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа, LALA и YTE
182	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
183	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины
184	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 с мутациями впадины и LALA
185	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
186	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.201. с мутациями впадины и YTE
187	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины, LALA и YTE
188	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
189	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутацией выступа
190	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа и LALA
191	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа и LALAPG
192	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа и YTE
193	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа, LALA и YTE
194	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа, LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
195	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины
196	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины и LALA
197	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины и LALAPG
198	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины и YTE
199	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины, LALA и YTE
200	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
201	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутацией выступа
202	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа и LALA
203	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
204	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа и YTE
205	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа, LALA и YTE
206	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
207	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины
208	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины и LALA
209	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины и LALAPG
210	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины и YTE
211	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины, LALA и YTE
212	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины, LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
213	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутацией выступа
214	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа и LALA
215	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа и LALAPG
216	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа и YTE
217	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа, LALA и YTE
218	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
219	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины
220	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины и LALA
221	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
222	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины и YTE
223	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины, LALA и YTE
224	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
225	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутацией выступа
226	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа и LALA
227	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа и LALAPG
228	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа и YTE
229	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQGGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа, LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
230	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
231	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины
232	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины и LALA
233	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины и LALAPG
234	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины и YTE
235	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины, LALA и YTE
236	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины, LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
237	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутацией выступа
238	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа и LALA
239	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа и LALAPG
240	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа и YTE
241	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа, LALA и YTE
242	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
243	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины
244	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины и LALA
245	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
246	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины и YTE
247	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины, LALA и YTE
248	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
249	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Экспрессированная CH3C.35 Fc последовательность
250	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутацией выступа
251	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc человека с мутациями впадины
252	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа и LALA
253	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc человека с мутациями впадины и мутациями LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
254	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGR GLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLS SPGK	Тяжелая цепь для анти-hCD20-3C.35.21 с мутациями выступа
255	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGR GLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLS SPGK	Тяжелая цепь для анти-hCD20-3C.35.21 с мутациями выступа и LALA
256	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGR GLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLS PGK	Тяжелая цепь для анти-hCD20-Fc с мутациями впадины
257	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGR GLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLS PGK	Тяжелая цепь для анти-hCD20-Fc с мутациями впадины и мутациями LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
258	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWI YATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTS NPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	Легкая цепь для слияния анти-hCD20
259	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWMHWIKQRPQGQ LEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCAREGYGSSPWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Тяжелая цепь для анти-mCD20-3C.35.21 с мутациями выступа
260	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWMHWIKQRPQGQ LEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCAREGYGSSPWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Тяжелая цепь для анти-mCD20-3C.35.21 с мутациями выступа и LALA
261	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWMHWIKQRPQGQ LEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCAREGYGSSPWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Тяжелая цепь для анти-mCD20-Fc с мутациями впадины

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
262	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYFTFSYWMHWIKQRPQGQ LEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCAREGYYGSSPWFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Тяжелая цепь для анти-mCD20-Fc с мутациями впадины и LALA
263	QIVMSQSPAILSASPGEKVTMTCRARSSVSYIHWHYQQKPGSSPKPW IYATSNLASGVPGRFSGSGSGTSYSLTITRVEAEDAATYYCQQWSS KPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	Легкая цепь для слияния анти-mCD20
264	GAATACATACTCCTCGTGAGG	sgPHK-1
265	AGAAGAATACTTAACATCTTTGG	sgPHK-2
266	GCTCAGA AACTCCGTGATCATCGTGGATAAGAACGGCCGGCTGG TGTACCTGGTGGAGAACCTGGCGGATACGTGGCTTACTCTAA GGCCGCTACCGTGACAGGCAAGCTGGTGCACGCCAACTTCGGA ACCAAGAAGGACTTTGAGGATCTGTACACACCAGTGAACGGCT CTATCGTGATCGTGCGCGCTGGAAAGATCACCTTCGCCGAGAA GGTGGCTAACGCCGAGAGCCTGAACGCCATCGGCGTGCTGATC TACATGGATCAGACAAAGTTTCCCATCGTGAACGCTGAGCTGT CTTTCTTTGGACACGCTCACCTGGGCACCGGAGACCCATACACA CCCGGATTCCCTAGCTTTAACCACACCCAGTTCCCCCTTCCAG GTCTAGCGGACTGCCAAACATCCCCGTGCAGACAATCAGCAGA GCCGCTGCCGAGAAGCTGTTTGGCAACATGGAGGGAGACTGCC CCTCCGATTGGAAGACCGACTCTACATGTAGGATGGTGACCTC CGAGTCAAAAATGTCAAACCTACCGTGTCCAAT	ДНК-последовательность вставки апикального домена человека

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
267	<p>CTATACAGATATATAAGGATGGGGCTTTTTTTTTTTAATTTTTTAAAAA AGATTTGTTTATTATTATATGTAAGTACACTGTAGCTGTCTTCAGACA CTCCAGAAGAGGGCATCAGATCTCATTACAGATGGTTGTGAGCTACC ATGTGGTCACTGGGATTTGAACTCAGGACCTTCAGAAGAGCAGTCAG TGCTCTTAACTGATAAGTTAATAATAAGTTAACTGATAAGGTAATAA AGGTCCCCTATGAAAAGGGTTCAGACCCAAAGAGTCAGAGATCCACA GGTTGAGAACCTCCTGCCCTAAATCTTGTGCTCTCCTTATTCAAGAC CACTCCTGTTGCAGTTGCTCTTAAAGCATGAGTATGCTCCCTTCTGAAA GTCTCCATAGCAGCCATCTCTCCAGCCCCAGAGTGAGGCTTTTAAAGG AATCTTCATGATAAATAGAATTTTTAAAAAAGTAACTGAAGTTACTTA AGGTGTTAAGGTACATTTTATTCCCTCAGTAACTGGTTAATCTAGCAG TTTTGAGTCATACTTCATTTATCTTGACTTTGAAGAGTAAGATATTA AACAAATTTGCTTGATCCTTGAAGTAAGTATTTAAATAGACATTTTAA GCAGACTTTTTTTAGTTGACTGGTGGTGTGTCACGTGGTCAATCCAAG TACTCATGGGAGGCAGAGGCAGGAGGATCTCTCTCTAGACCAGCCTG GTCTATAGAGCAAGTTCAGGACAGCCAGGGCTACACAGAAACCTTG TTCAAACAAGACTTTTATCCTTCCAGGCAGCTGAGCCAGAATACATA CACTCCTAGGGAAGCTGGTTCACAGAAGGACGAATCCCTGGCATACT ACATCGAGAATCAGTTTCACGAGTTCAGTTTAGCAAAGTCTGGAGA GATGAGCACTACGTGAAGATCCAGGTGAAGAGCTCCGCTCAGAACTC CGTGATCATCGTGGATAAGAACGGCCGGCTGGTGTACCTGGTGGAGA ACCCTGGCGGATACGTGGCTTACTCTAAGGCCGCTACCGTGACAGGC AAGCTGGTGCACGCCAACTTCGGAACCAAGAAGGACTTTGAGGATCT GTACACACCAGTGAACGGCTCTATCGTGATCGTGC GCGCTGGAAAGA TCACCTTCGCCGAGAAGGTGGCTAACGCCGAGAGCCTGAACGCCATC GGCGTGCTGATCTACATGGATCAGACAAAGTTTCCCATCGTGAACGC TGAGCTGTCTTTCTTTGGACACGCTCACCTGGGCACCGGAGACCCATA CACACCCGGATTCCCTAGCTTTAACCACACCCAGTTCCCCCCTTCCAG GTCTAGCGGACTGCCAAACATCCCCGTGCAGACAATCAGCAGAGCCG CTGCCGAGAAGCTGTTTGGCAACATGGAGGGAGACTGCCCTCCGAT TGGAAGACCGACTCTACATGTAGGATGGTGACCTCCGAGTCAAAAAA TGTCAAACCTACCGTGTCCAATGTGCTGAAAGAACGACGCATCCTGA ATATCTTTGGAGTTATTAAGGTTATGAGGAACCAGGTAAAGACCTG CTTTGTACTTTTTCACTTTACTGTTTTGCTTACTGTAGATAGGTCTAGT GCAGGAAGGAGAAGGATGCTAGCTTGGCATGAACTGCTATATCTTGT TTGTCTAATGTGAACTTTGTAATATATGTGTATATAACACATAATAT GGCCATGTAAGTGTATGGAGAGGCCAGAGTTAAGTATTAATATCTT TCTGTAATCATTTAAAATTTTACATATGAAGGTCAGTGAACAGATTGA AGGAGTTTTGTCCAGGTGGGACTTGGATCTAAATTTTTTACAATGCCT GGCAGCAAACACCTTTTTAATCAACTGAGCTGTCTCCCCAAATAAAGT GAATGTGATATCAGCTTGTGGATAATTTTTTTTTTTGTTGCTTTGATAAGT GGTTTTCTTACAGGATCACATAACCAGTCTGTCCATAGCATTAACAA ACATAACTGTCATGCAGTAGATTAATGTGCAGGGCACATCCAACAGT CACATTTATTAATAGGACAAAAAGTTGGACCTTATATGTAGCACACCT ATAATTCCAGTGCTAGGAAGATCCGGGTAGGAGATCCTTAGTTCCGGT GCTACTTAGTGAGGGTTTTGTTTCAAAAAACAAAAGCTATGATGGTGT GTTGCCTTTTTCTTTTAGACCGTTATGTTGTAGTAGGAGCCCAGAGA GACGCTTTGGGTGCTGGTGTGCGGCGAAGTCCAGTGTGGGAACAGG TCTTCTGTTGAAACTTGCCCAAGTATTCTCAGATATGATTTCAAAAGG T</p>	<p>Последова- тельность полной донорной - ДНК (левое плечо гомологии: 1-817; правое плечо гомологии: 1523-2329; апикальный домен человека: 941-1492; кодон- оптимизи- рованная последова- тельность: 821-1522)</p>

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
268	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1
269	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1
270	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1
271	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35. S413
272	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWVNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3. 1
273	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTWWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.N39 0.1
274	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.6. 1
275	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWWSYGTWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа и LALAPG
276	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWWSYGTWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
277	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа, LALA и YTE
278	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
279	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины
280	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины и LALA
281	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины и LALAPG
282	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины и YTE
283	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины, LALA и YTE
284	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWWEWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
285	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутацией выступа

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
286	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа и LALA
287	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа и LALAPG
288	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа и YTE
289	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа, LALA и YTE
290	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
291	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями впадины
292	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1. 1 с мутациями впадины и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
293	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1. 1 с мутациями впадины и LALAPG
294	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1. 1 с мутациями впадины и YTE
295	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1. 1 с мутациями впадины, LALA и YTE
296	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSDGSSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
297	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутацией выступа
298	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа и LALA
299	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
300	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа и YTE
301	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа, LALA и YTE
302	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
303	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины
304	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины и LALA
305	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины и LALAPG
306	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
307	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины, LALA и YTE
308	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины, LALAPG и YTE
309	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутацией выступа
310	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа и LALA
311	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа и LALAPG
312	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа и YTE
313	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа, LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
314	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа, LALAPG и YTE
315	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины
316	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины и LALA
317	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины и LALAPG
318	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины и YTE
319	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины, LALA и YTE
320	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины, LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
321	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями M198L и N204S
322	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
323	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа, LALA, M198L и N204S
324	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
325	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
326	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S
327	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VTKEEWQQGFVFSVLSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
328	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями M198L и N204S
329	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
330	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
331	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
332	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
333	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S
334	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
335	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями M198L и N204S
336	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
337	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
338	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
339	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
340	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S
341	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
342	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями M198L и N204S
343	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
344	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
345	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
346	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
347	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S
348	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKEEWQQGFVFSVLSHLSYHTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
349	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGIFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSQSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями M198L и N204S</p>
350	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSQSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа, а также M198L и N204S</p>
351	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSQSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S</p>
352	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGIFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSQSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S</p>
353	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSQSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины, а также M198L и N204S</p>
354	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSQSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S</p>

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
355	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1 7.2 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S
356	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями M198L и N204S
357	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
358	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
359	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
360	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
361	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
362	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S
363	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями M198L и N204S
364	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
365	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
366	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
367	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
368	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVTKKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
369	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKL TVTKEEWQQGFVFSVSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S
370	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями M198L и N204S
371	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа, а также M198L и N204S
372	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
373	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
374	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями впадины, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
375	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S</p>
376	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFSVSLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.20.1. 1 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S</p>
377	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями M198L и N204S</p>
378	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа, а также M198L и N204S</p>
379	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S</p>
380	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVSKSEWQQGFVFSVSLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S</p>

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
381	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины, а также M198L и N204S</p>
382	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S</p>
383	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVSKSEWQQGFVFSCSVLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.2. 1 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S</p>
384	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VSKEEWQQGFVFSCSVLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями M198L и N204S</p>
385	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа, а также M198L и N204S</p>
386	<p>APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALSHYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S</p>

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
387	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVSKEEWQQGFVFCSSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
388	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFCSSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины, а также M198L и N204S
389	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFCSSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S
390	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLT VSKEEWQQGFVFCSSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1. 1 с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S
391	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутацией выступа
392	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа и LALA
393	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
394	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа и YTE
395	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа, LALA и YTE
396	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа, LALAPG и YTE
397	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины
398	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины и LALA
399	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины и LALAPG
400	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины и YTE
401	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины, LALA и YTE
402	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины, LALAPG и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
403	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями M198L и N204S
404	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа, а также M198L и N204S
405	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа, LALA, а также M198L и N204S
406	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями выступа, LALAPG, а также M198L и N204S
407	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины, а также M198L и N204S
408	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины, LALA, а также M198L и N204S
409	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями впадины, LALAPG, а также M198L и N204S

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
410	<p>QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGR GLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSL SPGK</p>	Тяжелая цепь для анти-hCD20-3C.35.23 с мутациями выступа
411	<p>QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGR GLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARSTYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSL SPGK</p>	Тяжелая цепь для анти-hCD20-3C.35.23 с мутациями выступа и LALA
412	<p>QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWMHWIKQRPQGQ LEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCAREGYGSSPWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSP GK</p>	Тяжелая цепь для анти-mCD20-3C.35.23 с мутациями выступа
413	<p>QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWMHWIKQRPQGQ LEWIGVIDPSDNYTKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCAREGYGSSPWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSP GK</p>	Тяжелая цепь для анти-mCD20-3C.35.23 с мутациями выступа и LALA
414	YxTEWSS	Консенсусный мотив для CH3C.35

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
415	TxxExxxxF	Консенсусный мотив для СНЗС.35
416	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWFDGTTKKYYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNTLRA EDTAVYYCARDRIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LSDGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLS LSPGK</p>	Тяжелая цепь для полипептида анти-Аβ-Fc
417	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWFDGTTKKYYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNTLRA EDTAVYYCARDRIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGT EWSNYKTTTPPV LSDGSAFLYSLKLTVSKEEWQGGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLS LSPGK</p>	Тяжелая цепь для анти-Аβ-3С.35.23.4 с мутациями выступа и LALA
418	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWFDGTTKKYYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNTLRA EDTAVYYCARDRIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LSDGSAFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSL SLSPGK</p>	Тяжелая цепь для анти-Аβ-Fc с мутациями впадины и LALA
419	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWFDGTTKKYYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNTLRA EDTAVYYCARDRIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LSDGSAFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLS LSPGK</p>	Тяжелая цепь для анти-Аβ-Fc с мутациями впадины

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
420	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	Легкая цепь для слияния анти-Аβ
421	HHHHHH	6XHis метка

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Модифицированный димер полипептида Fc или его димерный фрагмент, который:

- (a) специфически связывает TfR;
- (b) способен связывать рецептор Fcγ (FcγR); и
- (c) существенно не деплетирует ретикулоциты *in vivo*.

2. Модифицированный димер полипептида Fc или его димерный фрагмент, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий (i) TfR-связывающий сайт и (ii) одну или большее количество аминокислотных модификаций, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR; и

(b) второй полипептид Fc, который не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

3. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанный TfR-связывающий сайт содержит модифицированный домен CH3.

4. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 3, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 происходит из домена CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

5. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 3 или п. 4, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 содержит пять, шесть, семь, восемь или девять замен в наборе аминокислотных положений, включающем 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, согласно нумерации EU.

6. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 5, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415.

7. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 5 или п. 6, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426.

8. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что указанный модифицированный димер полипептида Fc связывается с апикальным доменом TfR.

9. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 8, отличающийся тем, что указанный модифицированный димер полипептида Fc связывается с TfR без ингибирования связывания трансферрина с TfR.

10. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 8 или п. 9, отличающийся тем, что указанный модифицированный димер полипептида Fc связывается с эпитопом, который содержит аминокислоту 208 TrR.

11. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 10, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит Trp в положении 388.

12. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 11, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ включает ароматическую аминокислоту в положении 421.

13. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 12, отличающийся тем, что указанная ароматическая аминокислота в положении 421 представляет собой Trp или Phe.

14. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 10, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 384, представляющего собой Leu, Tyr, Met или Val; положения 386, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 387, представляющего собой Val, Pro или кислотную аминокислоту; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 413, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 416, представляющего собой Thr или кислотную аминокислоту; и положения 421, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe.

15. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 14, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит две, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь положений, выбранных из следующих положений: положения 384, представляющего собой Leu, Tyr, Met или Val; положения 386, представляющего собой Leu, Thr, His или Pro; положения 387, представляющего собой Val, Pro или кислотную аминокислоту; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Val, Ser или Ala; положения 413, представляющего собой Glu, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro; положения 416, представляющего собой Thr или кислотную аминокислоту; и положения 421, представляющего собой Trp, Tyr, His или Phe.

16. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 15, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ включает Leu или Met в положении 384; Leu, His или Pro в положении 386; Val в положении 387; Trp в положении 388; Val или Ala в положении 389; Pro в положении 413; Thr в положении 416; и/или Trp в положении 421.

17. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 16, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391.

18. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 16 или п. 17, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380.

19. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 16 - 18, в котором модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Gln, Phe или His в положении 392.

20. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 16 или п. 17, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Gln в положении 392.

21. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 14 - 20, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранных из следующих положений: положения 414, представляющего собой Lys, Arg, Gly или Pro; положения 424, представляющего собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положения 426, представляющего собой Ser, Trp или Gly.

22. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 15, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu или Val в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser или Thr в положении 413, Glu в положении 416 и/или Phe в положении 421.

23. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 22, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380.

24. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 22 или п. 23, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Glu в положении 415.

25. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 22, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Glu в положении 415.

26. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 22 - 25, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит Asp в положении 390.

27. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 6 - 10, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ включает одну или большее количество из следующих замен: Trp в положении 380; Thr в положении 386; Trp в положении 388; Val в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 415; и/или Phe в положении 421.

28. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 27, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 4-29 и 64-127.

29. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 28, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270.

30. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 27, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ имеет по меньшей мере 85% идентичности с аминокислотами 111-217 SEQ ID NO: 1 при условии, что процент идентичности не включает в себя набор положений 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, согласно нумерации EU.

31. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 30, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит аминокислоты 154-160 и/или 183-191 любой из SEQ ID NO: 4-29 и 125-127.

32. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 6 -10, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующих положений: положения 380, представляющего собой Trp, Leu или Glu; положения 384, представляющего собой Tyr или Phe; положения 386, представляющего собой Thr; положения 387, представляющего собой Glu; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 390, представляющего собой Ser или Asn; положения 413, представляющего собой Thr или Ser; положения 415, представляющего собой Glu или Ser; положения 416, представляющего собой Glu; и положения 421, представляющего собой Phe.

33. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 32, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен СНЗ содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующих: положения 380, представляющего собой Trp, Leu

или Glu; положения 384, представляющего собой Trp или Phe; положения 386, представляющего собой Thr; положения 387, представляющего собой Glu; положения 388, представляющего собой Trp; положения 389, представляющего собой Ser, Ala, Val или Asn; положения 390, представляющего собой Ser или Asn; положения 413, представляющего собой Thr или Ser; положения 415, представляющего собой Glu или Ser; положения 416, представляющего собой Glu; и положения 421, представляющего собой Phe.

34. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 33, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 содержит 11 положений, как указано ниже: положение 380, представляющее собой Trp, Leu или Glu; положение 384, представляющее собой Trp или Phe; положение 386, представляющее собой Thr; положение 387, представляющее собой Glu; положение 388, представляющее собой Trp; положение 389, представляющее собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390, представляющее собой Ser или Asn; положение 413, представляющее собой Thr или Ser; положение 415, представляющее собой Glu или Ser; положение 416, представляющее собой Glu; и положение 421, представляющее собой Phe.

35. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 33 или п. 34, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 4-29 и 64-127.

36. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 35, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 66, 68, 94, 107-109, 119 и 268-270.

37. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 35, отличающийся тем, что остатки по меньшей мере в 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 из положений соответствуют положениям 380, 384, 386, 384, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 и 426, согласно схеме нумерации EU, не удаляют и не заменяют.

38. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 3, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 38-61 и 131-173.

39. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5 - 37, отличающийся тем, что указанный модифицированный домен CH3 дополнительно содержит (i) Trp в положении 366 или (ii) Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val

в положении 407, согласно схеме нумерации EU.

40. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 5- 39, отличающийся тем, что соответствующий немодифицированный домен CH3 представляет собой домен CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

41. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 2 - 40, отличающийся тем, что аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, включают Ala в положении 234 и в положении 235 согласно схеме нумерации EU.

42. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 2 - 41, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке.

43. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 42, отличающийся тем, что аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434 или (ii) Ser или Ala в положении 434, согласно схеме нумерации EU.

44. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 1 - 43, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc дополнительно слит с Fab.

45. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 2 - 44, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит мутацию выступа T366W, а указанный второй полипептид Fc содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU.

46. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 2 - 44, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а указанный второй полипептид Fc содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU.

47. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

48. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 47, отличающийся тем, что

указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 и 310.

49. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 47 или п. 48, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

50. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

51. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 50, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 и 386.

52. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 50 или п. 51, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 397.

53. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

54. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 53, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 и 310.

55. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 53 или п. 54, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 407.

56. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутацию выступа T366W, аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме

нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутации впадины T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

57. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 56, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 и 386.

58. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 56 или п. 57, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 407.

59. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

60. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 59, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 и 316.

61. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 59 или п. 60, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

62. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

63. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 62, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 и 389.

64. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 62 или п. 63, отличающийся

тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 391.

65. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, а также мутации впадины T366S, L368A и Y407V, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

66. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 65, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NO: 184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 и 316.

67. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 65 или п. 66, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 404.

68. Модифицированный димер полипептида Fc, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации впадины T366S, L368A и Y407V, а также аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и

(b) второй полипептид Fc, который содержит мутацию выступа T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, согласно схеме нумерации EU, и не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

69. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 68, отличающийся тем, что указанный первый полипептид Fc содержит последовательность любой из SEQ ID NOs: 326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 и 389.

70. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 68 или п. 69, отличающийся тем, что указанный второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO: 404.

71. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 1- 70, отличающийся тем, что указанный модифицированный димер полипептида Fc по существу не деплетирует ретикулоциты.

72. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 71, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, деплетированных после введения модифицированного димера полипептида Fc, меньше, чем количество ретикулоцитов, деплетированных после

введения контроля.

73. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 72, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, деплетированных после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5 %, 3%, 2% или 1% от количества ретикулоцитов, деплетированных после введения контроля.

74. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 71, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, оставшихся после введения модифицированного димера полипептида Fc, больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся после введения контроля.

75. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 74, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, оставшихся после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет по меньшей мере на 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или на 50% больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся после введения контроля.

76. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 1 -70 , отличающийся тем, что указанный модифицированный димер полипептида Fc по существу не деплетирует ретикулоциты в костном мозге.

77. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 76, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, меньше, чем количество ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения контроля.

78. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 77, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5 %, 3%, 2% или 1% от количества ретикулоцитов, деплетированных в костном мозге после введения контроля.

79. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 76, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения контроля.

80. Модифицированный димер полипептида Fc по п. 79, отличающийся тем, что количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения модифицированного димера полипептида Fc, составляет по меньшей мере на 1%, 5%,

10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или на 50% больше, чем количество ретикулоцитов, оставшихся в костном мозге после введения контроля.

81. Модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 72 - 75 и 77 - 80, отличающийся тем, что контроль представляет собой соответствующий TfR-связывающий димер Fc с полной эффекторной функцией и/или не содержит мутаций, которые уменьшают связывание FcγR.

82. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" , который способен активно транспортироваться через ГЭБ, при этом указанный слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" содержит:

(a) вариабельную область антитела, которая способна связывать антиген, или ее антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) модифицированный димер полипептида Fc, содержащий (i) первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий TfR-связывающий сайт и одну или большее количество аминокислотных модификаций, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, и (ii) второй полипептид Fc, который не содержит TfR-связывающего сайта или каких-либо модификаций, которые уменьшают связывание FcγR.

83. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по п. 82, отличающийся тем, что аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, включают Ala в положении 234 и в положении 235 согласно схеме нумерации EU.

84. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по п. 82 или п. 83, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке.

85. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по п. 84, отличающийся тем, что аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434 или (ii) Ser или Ala в положении 434, согласно схеме нумерации EU.

86. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по любому из пп. 82 - 85, отличающийся тем, что последовательность вариабельной области антитела содержит домен Fab.

87. Слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по любому из пп. 82 - 86, отличающийся тем, что последовательность вариабельной области антитела содержит две тяжелые цепи вариабельной области антитела и две легкие цепи вариабельной области антитела или их соответствующие фрагменты.

88. Фармацевтическая композиция, содержащая модифицированный димер

полипептида Fc по любому из пп. 1 - 81 и фармацевтически приемлемый носитель.

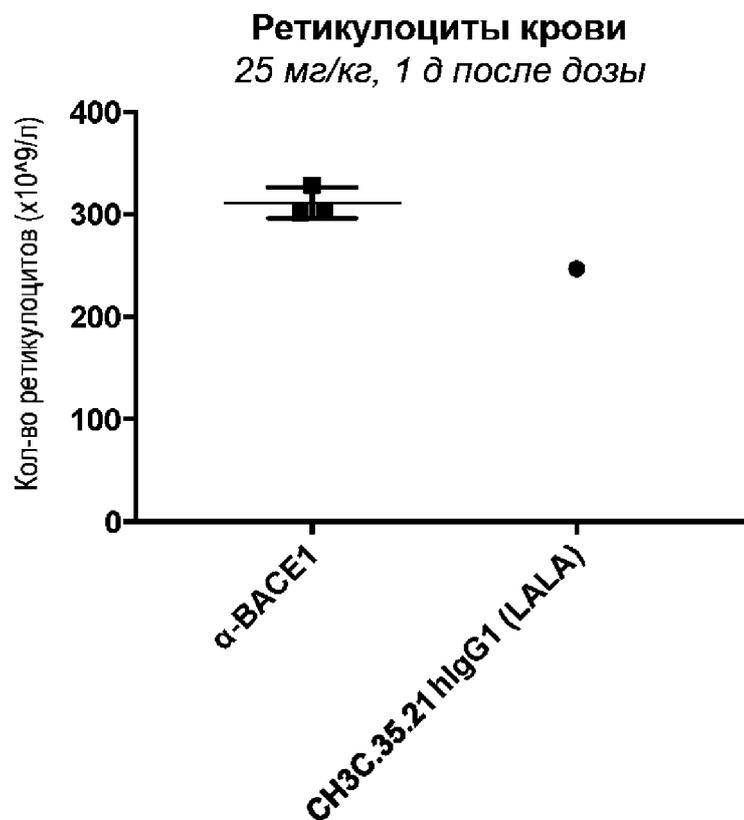
89. Фармацевтическая композиция, содержащая слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по любому из пп. 82 - 87 и фармацевтически приемлемый носитель.

90. Способ трансцитоза композиции через эндотелий, включающий приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей модифицированный димер полипептида Fc по любому из пп. 1 - 81.

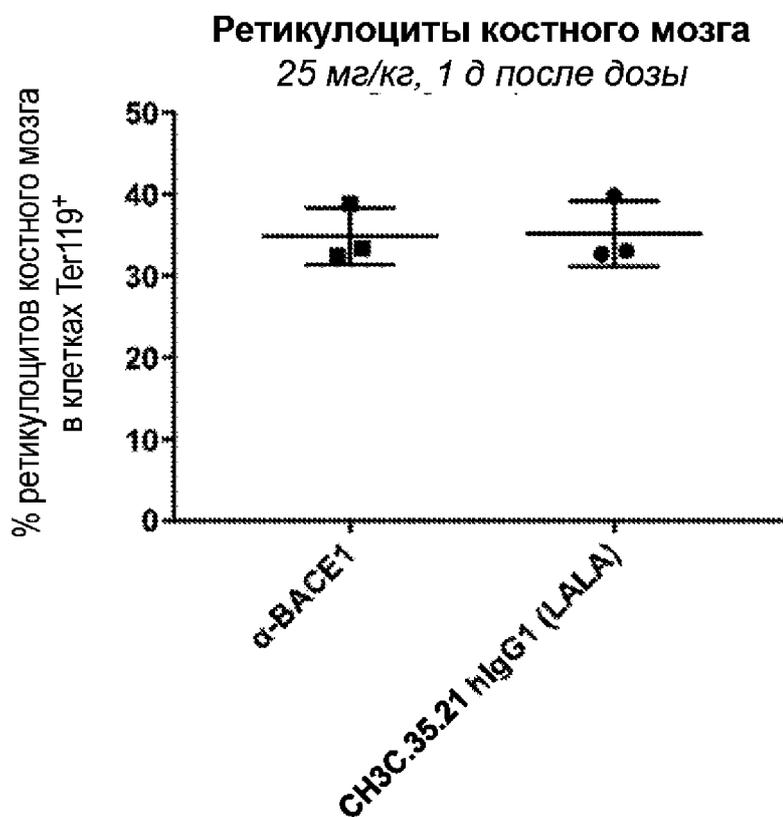
91. Способ трансцитоза композиции через эндотелий, включающий приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей слитый белок "димер полипептида Fc - Fab" по любому из пп. 82 - 87.

92. Способ по п. 90 или п. 91, отличающийся тем, что эндотелий представляет собой ГЭБ.

Фиг. 1А

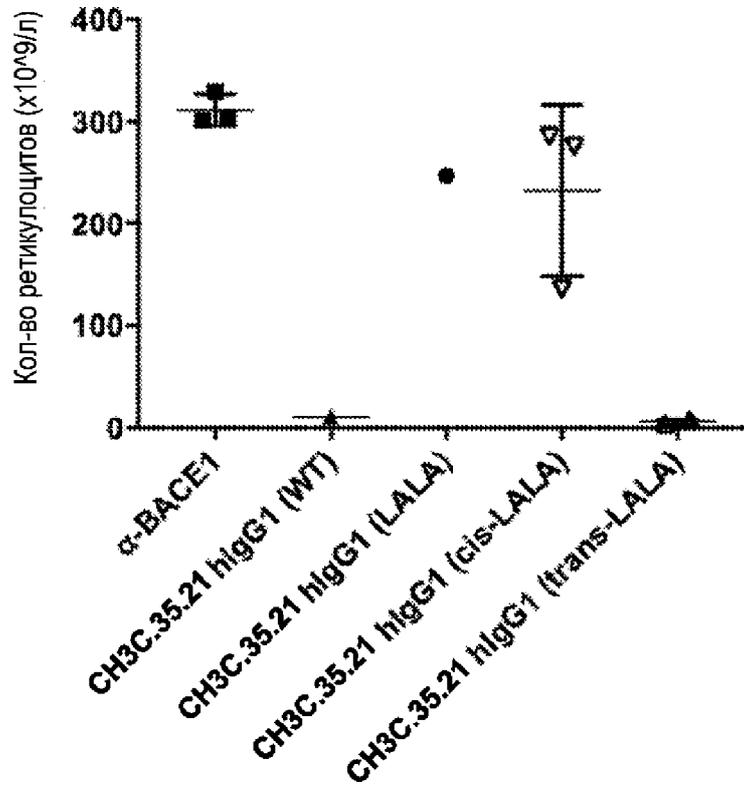


Фиг. 1В



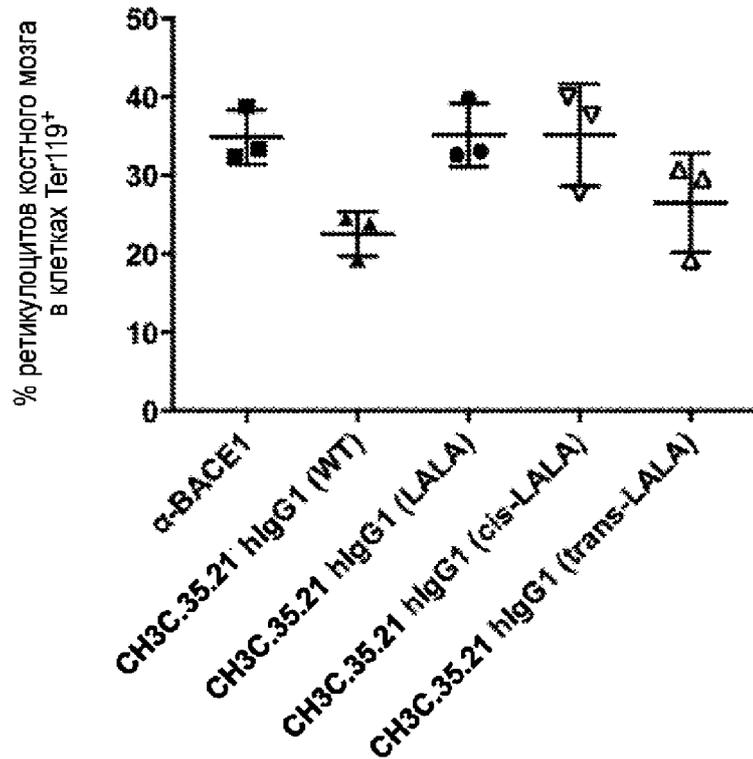
Фиг. 2А

Ретикулоциты крови
25 мг/кг, 1 д после дозы



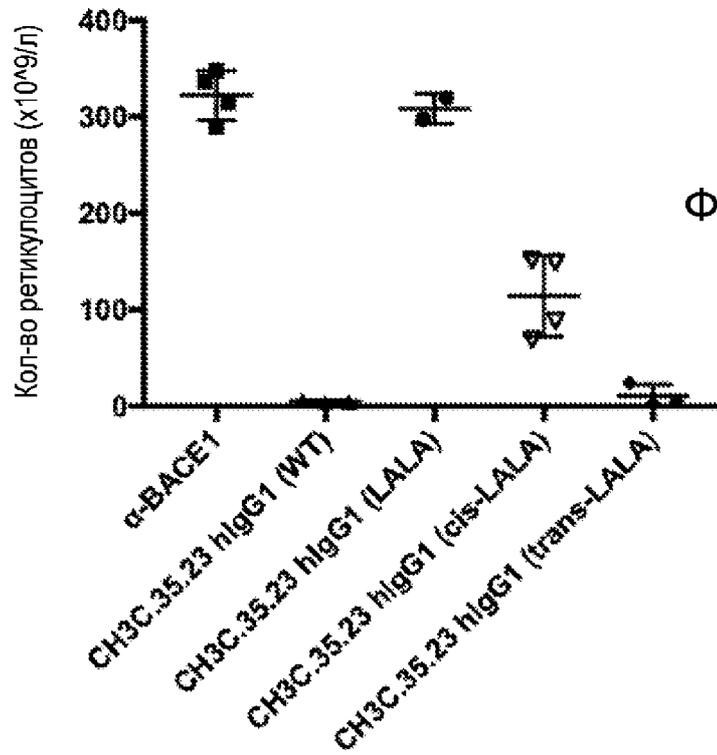
Фиг. 2В

Ретикулоциты костного мозга
25 мг/кг, 1 д после дозы



Ретикулоциты крови

50 мг/кг, 1 день после дозы

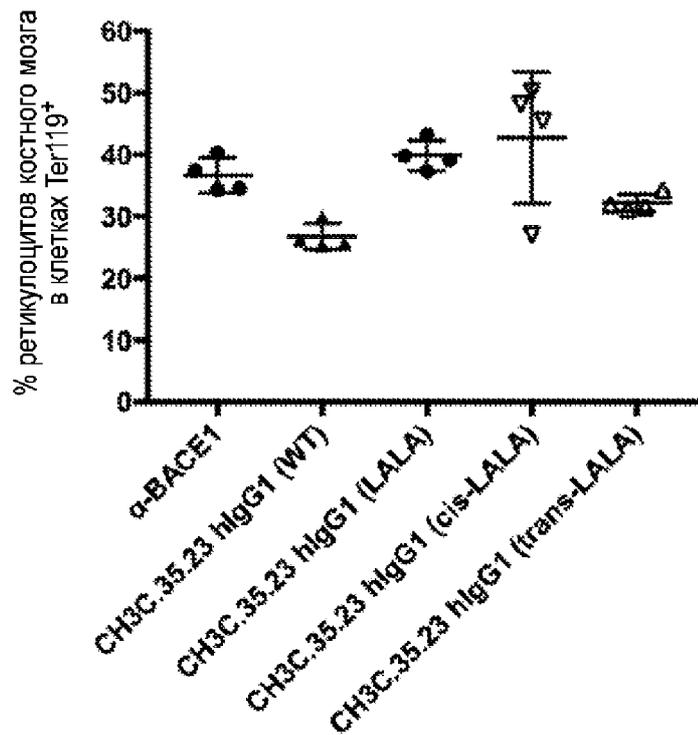


Фиг. 2C

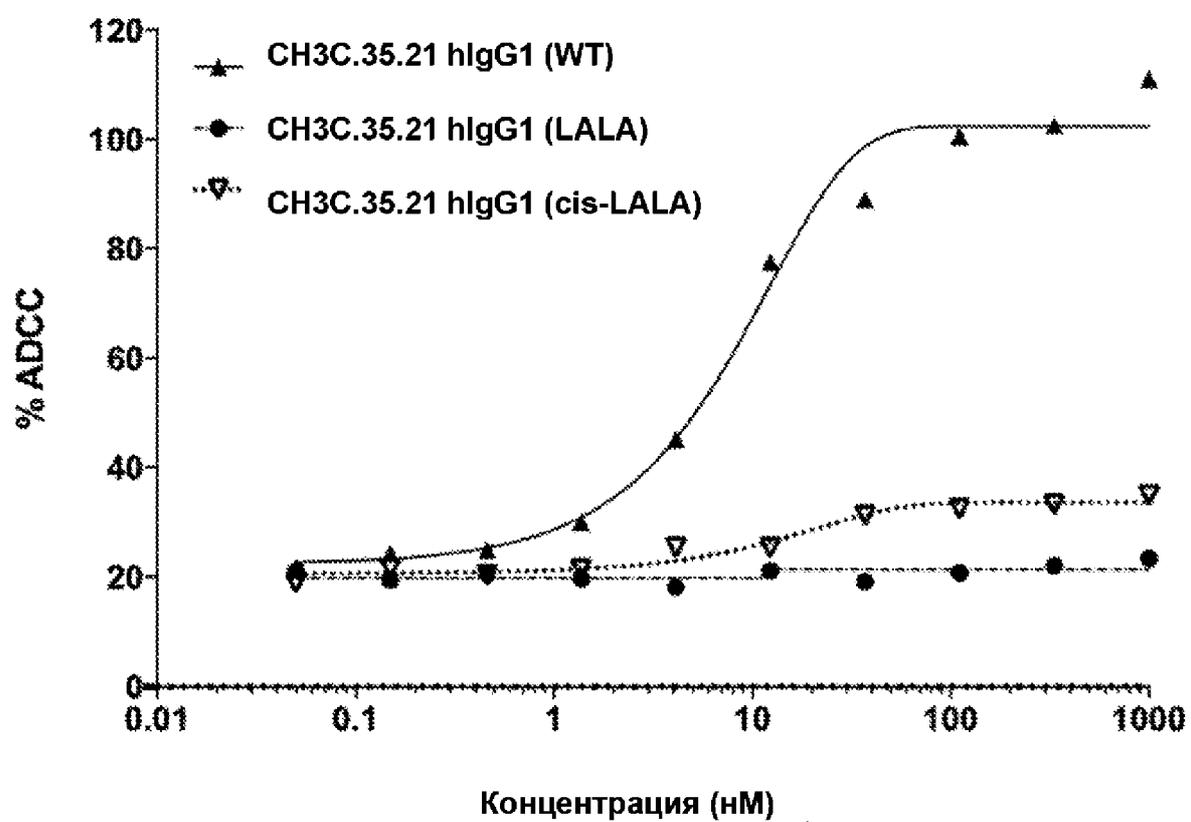
Фиг. 2D

Ретикулоциты костного мозга

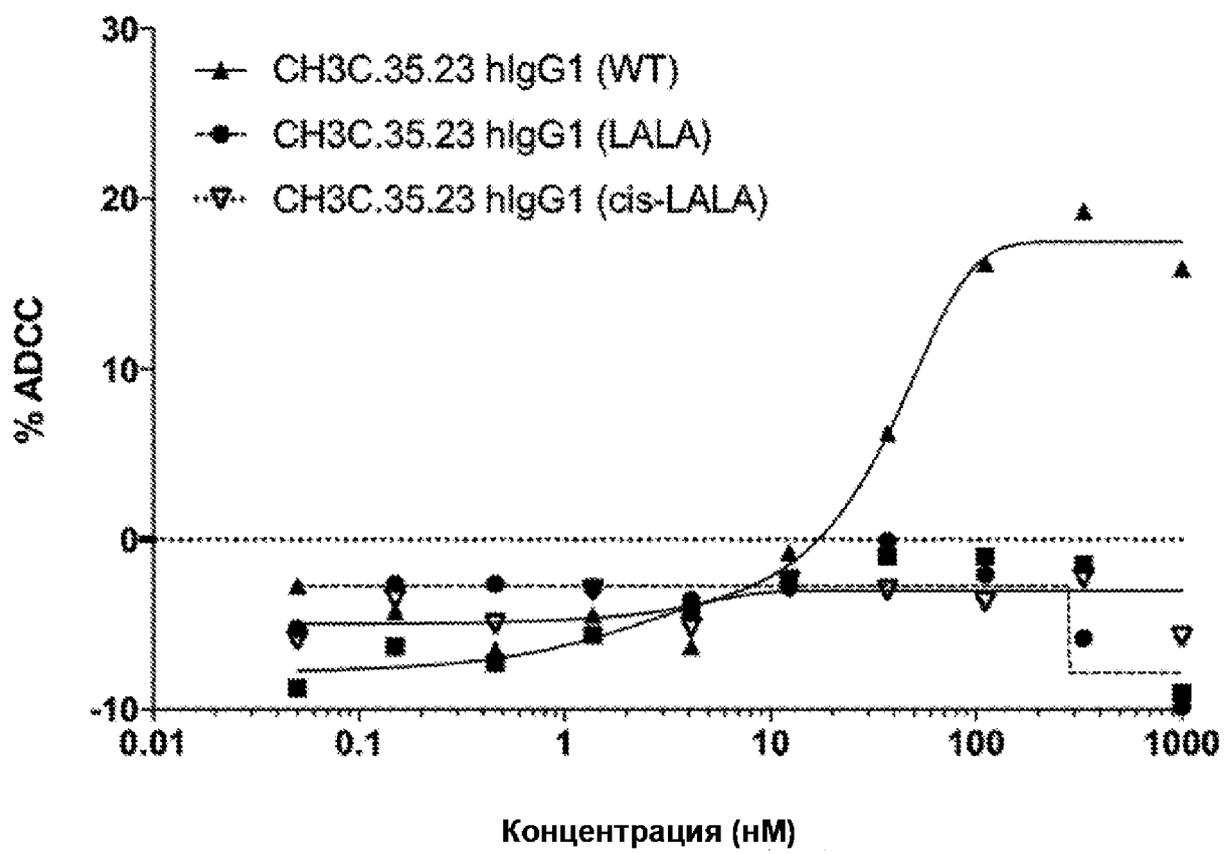
50 мг/кг, 1 день после дозы



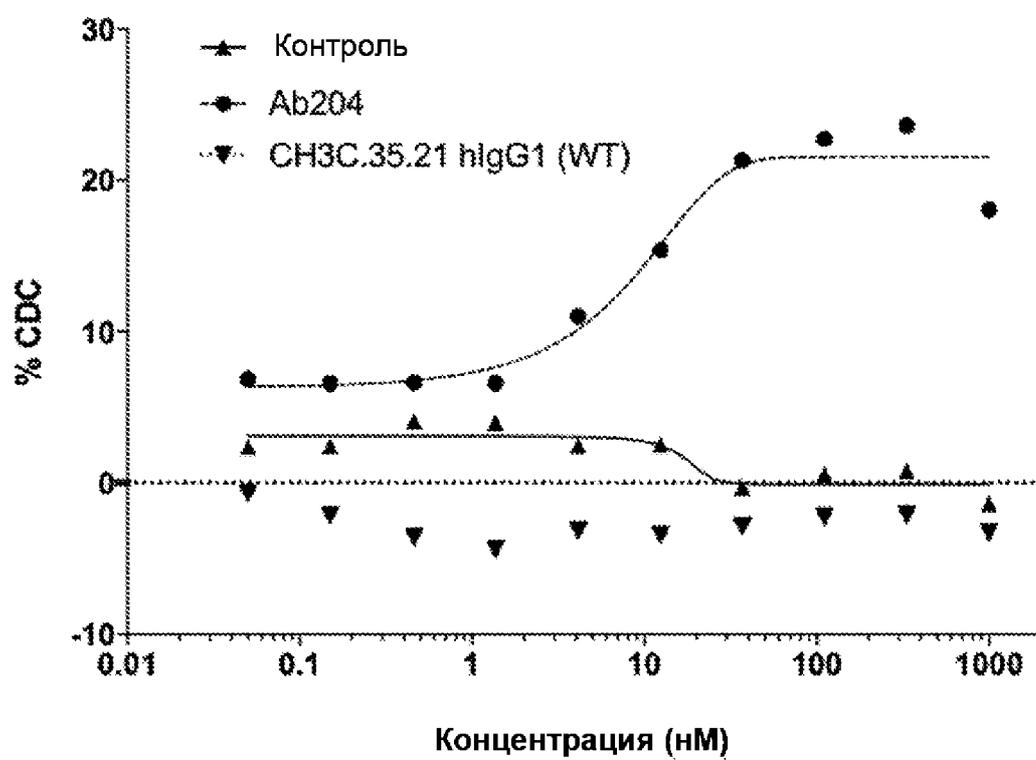
Фиг. 3А



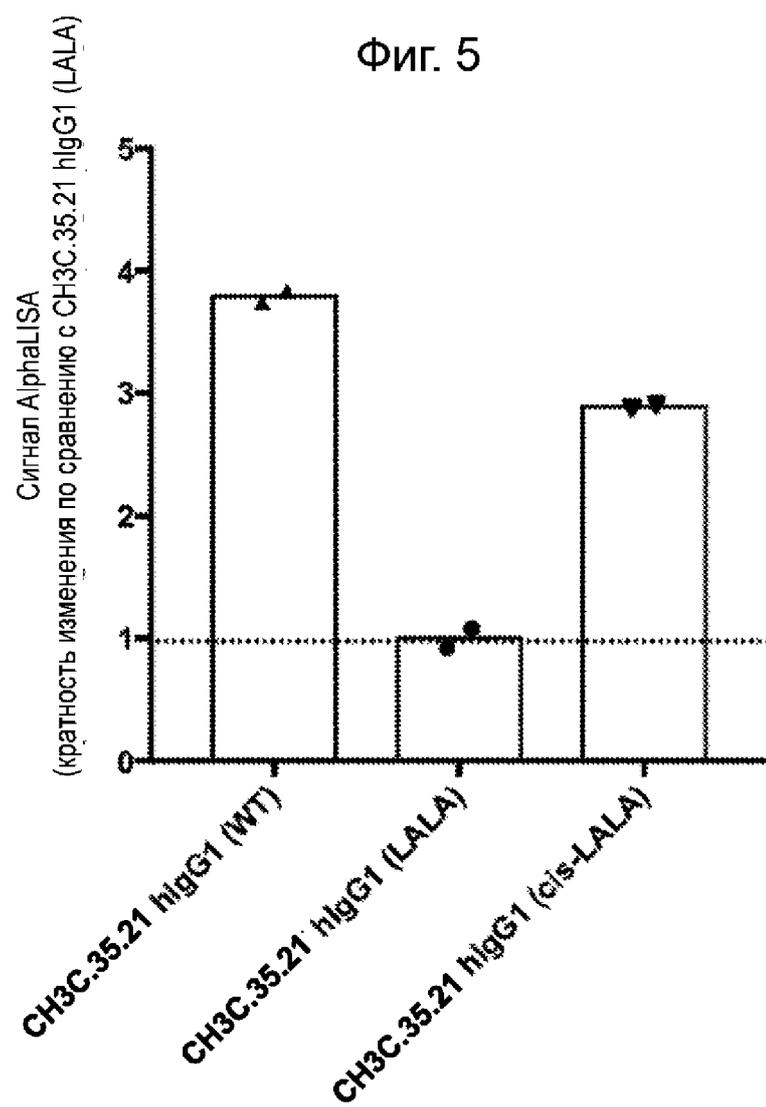
Фиг. 3В



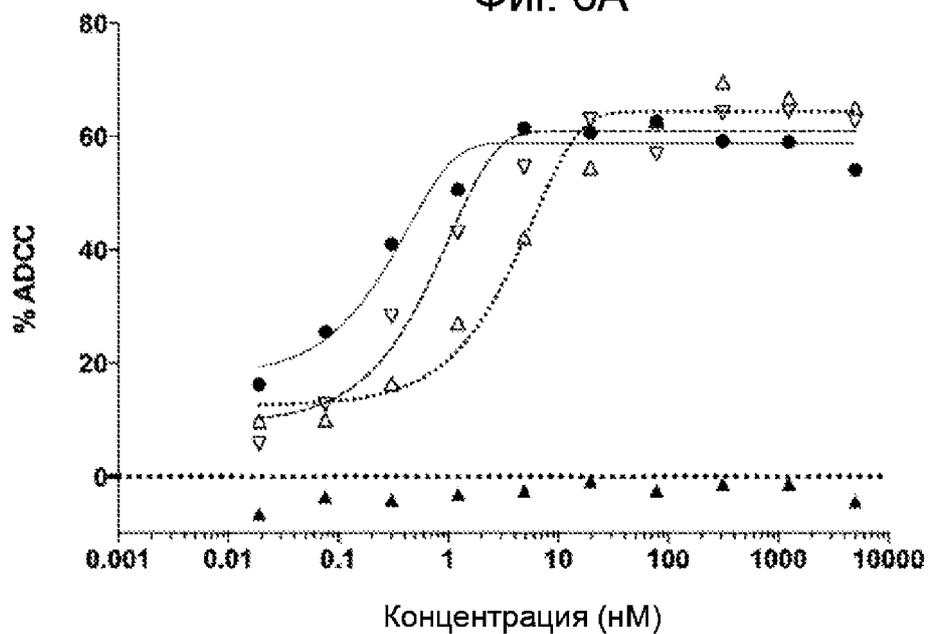
Фиг. 4



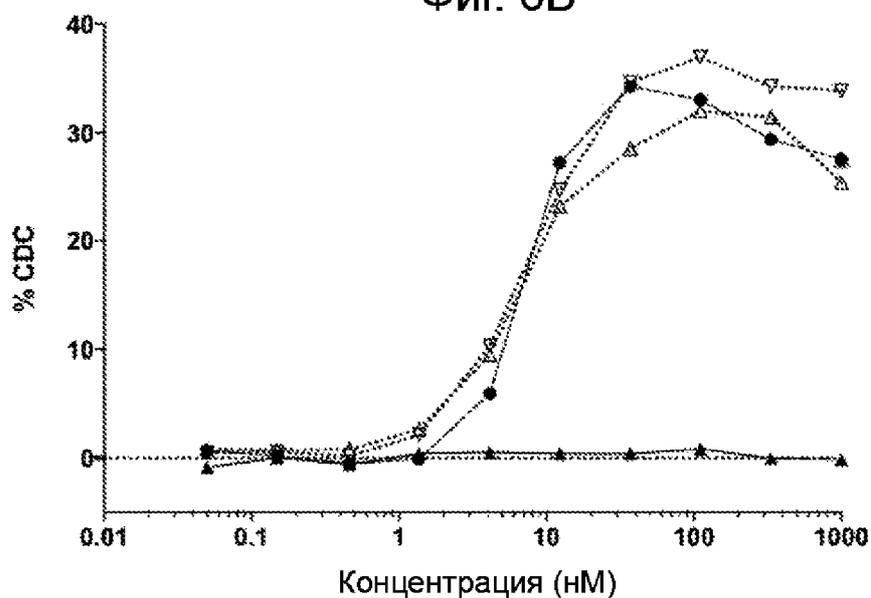
Фиг. 5



Фиг. 6А



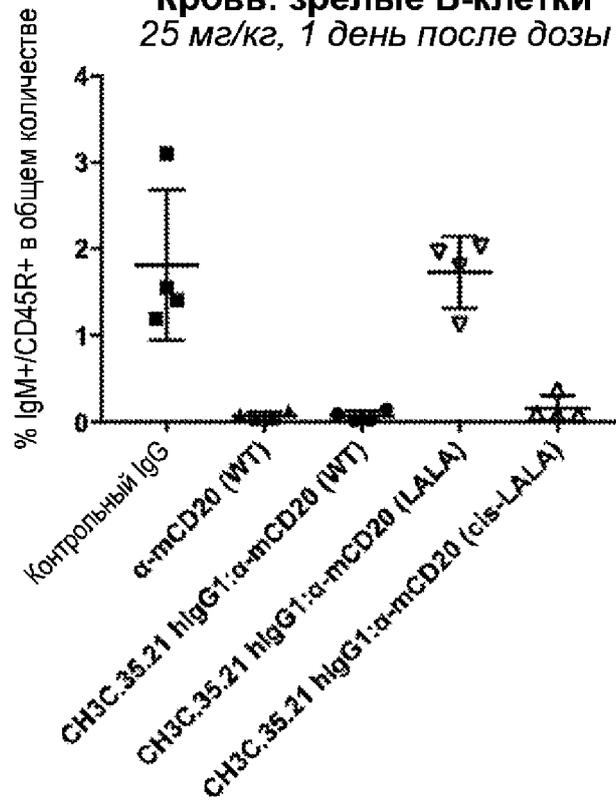
Фиг. 6В



- ▲ Контрольный IgG
- anti-hCD20
- ▽ CH3C.35.21 hlgG1: α -hCD20 (WT)
- △ CH3C.35.21 hlgG1: α -hCD20 (cis-LALA)

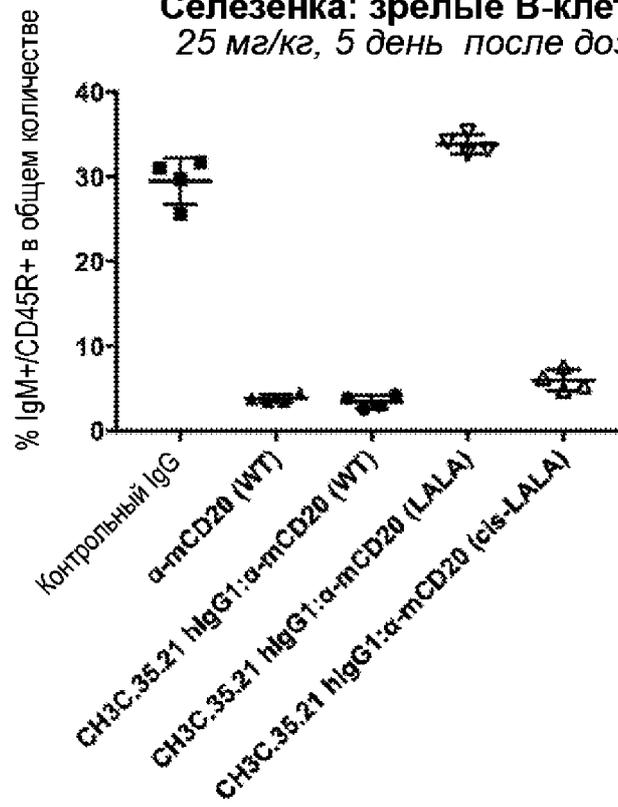
Фиг. 7А

Кровь: зрелые В-клетки
 25 мг/кг, 1 день после дозы

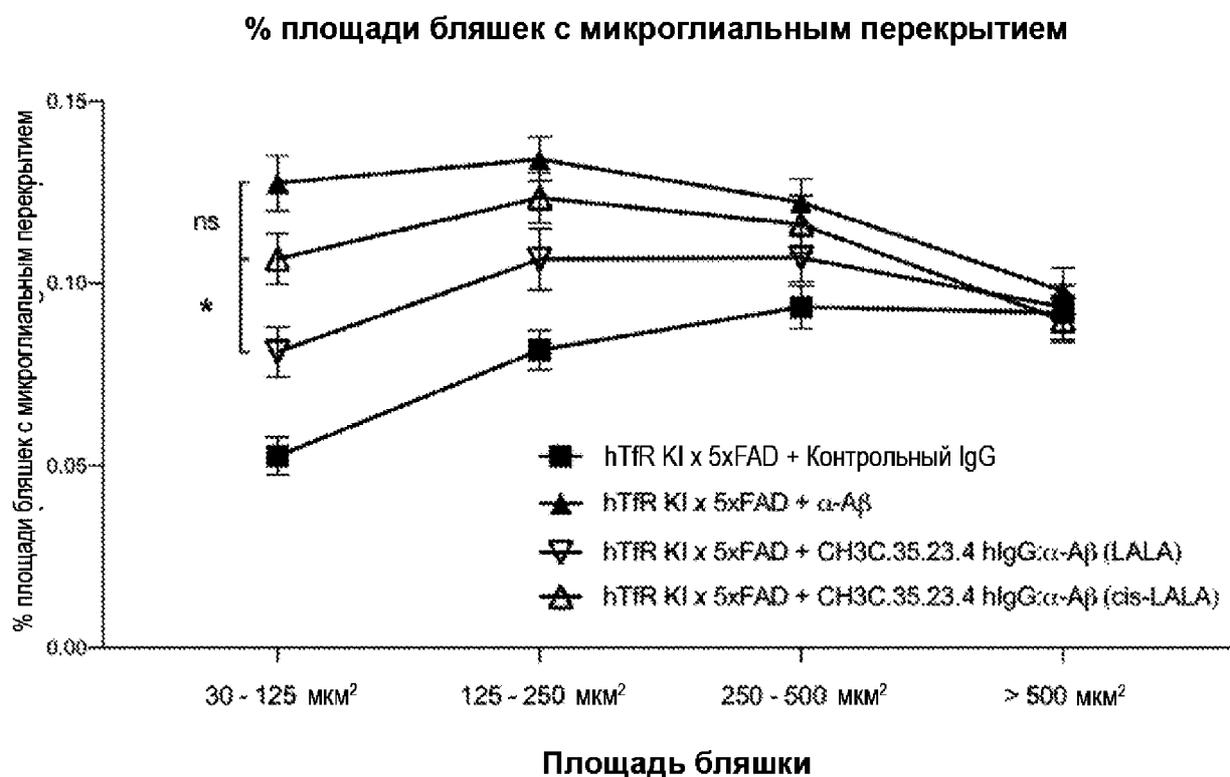


Фиг. 7В

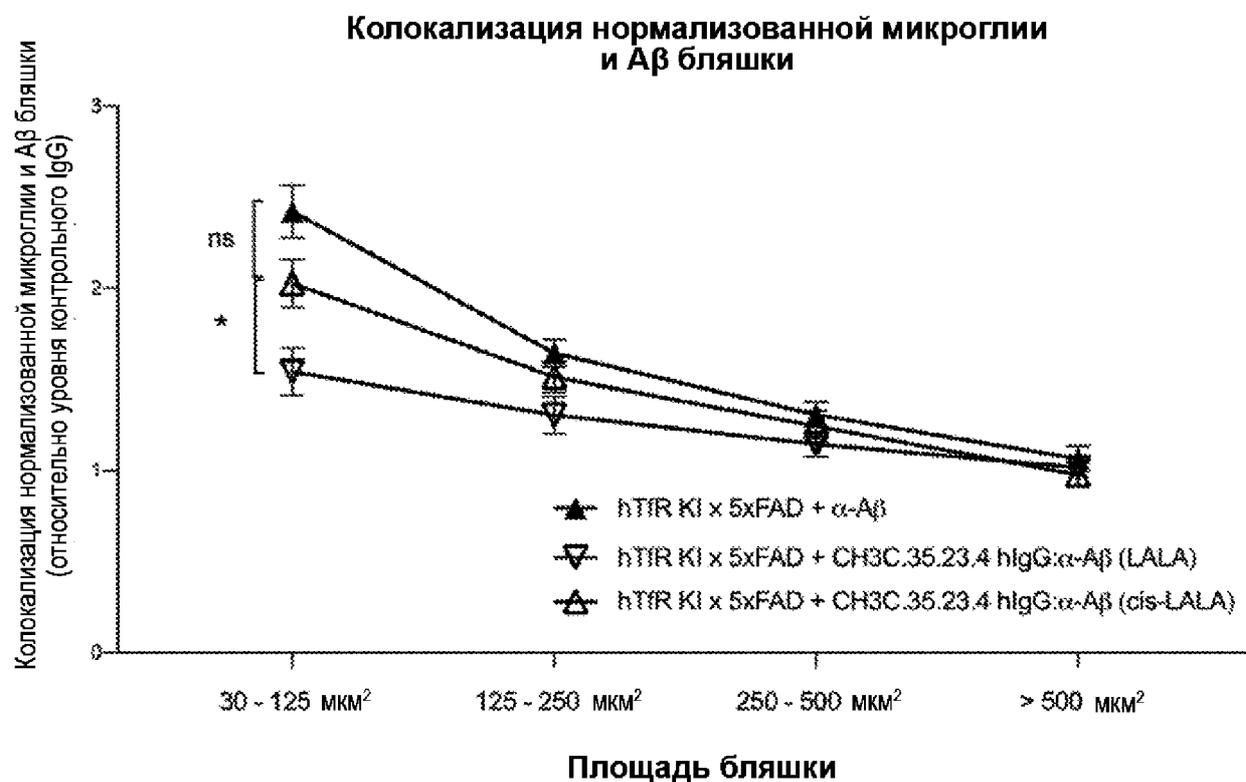
Селезенка: зрелые В-клетки
 25 мг/кг, 5 день после дозы



Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 8С

% площади ткани А β бляшек (30 – 125 мкм²)

