

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037065**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.02.01

(21) Номер заявки
201791164

(22) Дата подачи заявки
2015.11.25

(51) Int. Cl. *A61P 35/02* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(54) ГЕТЕРОДИМЕРНЫЕ АНТИТЕЛА, СВЯЗЫВАЮЩИЕ CD3 И CD38

(31) 62/085,106; 62/250,971

(32) 2014.11.26; 2015.11.04

(33) US

(43) 2017.12.29

(86) PCT/US2015/062786

(87) WO 2016/086196 2016.06.02

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

(72) Изобретатель:
**Мур Грегори, Дежарле Джон, Бернетт
Мэттью, Чу Сеунг, Рашид Румана,
Мучхал Умеш (US)**

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

(56) US-A1-2014294833
WO-A1-2014110601
US-A1-2014302064

BORTOLETTO NICOLA ET AL.:
"Optimizing anti-CD3 affinity for effective T
cell targeting against tumor cells", EUROPEAN
JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILEY - VCH
VERLAG GMBH & CO. KGAA, DE, vol. 32,
no. 11, 1 November 2002 (2002-11-01), pages
3102-3107, XP002436763, ISSN: 0014-2980, DOI:
10. 1002/1521-4141 (2002 11)32:11 <3 102 :: AI D-I
MMU3 102>3.0. CO; 2-C, page 3105

WO-A1-2015149077
Gregory Moore: "Tuning T Cell Affinity
Improves Efficacy and Safety of Anti-CD38 x Anti-
CD3 Bispecific Antibodies in Monkeys - a Potential
Therapy for Multiple Myeloma", 5 December 2015
(2015-12-05), XP055258267, Retrieved from the
Internet: URL: [https://a.sh.confex.com/ash/2015/web
program/Paper78382.html](https://a.sh.confex.com/ash/2015/webprogram/Paper78382.html) [retrieved on 2016-03-15]
the whole document

(57) Изобретение относится к гетеродимерным антителам, которые связывают CD3 и CD38.

B1

037065

037065

B1

Перекрестные ссылки на родственные заявки

В настоящей заявке заявляется приоритет согласно статье 35 Свода федеральных законов США 119(e) по предварительной заявке на патент США № 62/085106, поданной 26 ноября 2014 г., и по предварительной заявке на патент США 62/250971, поданной 4 ноября 2015 г., полное содержание которых явно включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме, с отдельными ссылками на чертежи, условные обозначения и формулы, приведенные в них.

Уровень техники

Лекарственные средства на основе антител успешно применяются для лечения различных заболеваний, включая рак и аутоиммунные/воспалительные нарушения. Тем не менее, данный класс лекарственных веществ все же требует усовершенствований, в частности это касается повышения клинической эффективности. Один из основных исследуемых подходов заключается в конструировании дополнительных и новых антигенсвязывающих сайтов в лекарственных веществах на основе антител, так чтобы одна иммуноглобулиновая молекула одновременно захватывает два разных антигена. Такие ненативные или альтернативные формы антител, которые захватывают два разных антигена, часто называются биспецифическими. Поскольку значительное разнообразие варибельного участка антител (Fv) дает возможность получать Fv, который распознает практически любую молекулу, типичным подходом для получения биспецифических антител является введение в антитело новых варибельных участков.

Был исследован ряд альтернативных форм антител на биспецифический таргетинг (Chames & Baty, 2009, mAbs 1[6]:1-9; Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; Kontermann, MAbs 4(2):182 (2012), все явным образом полностью включены в данный документ посредством ссылки). Первоначально биспецифические антитела получали слиянием двух клеточных линий, каждая из которых продуцировала одно моноклональное антитело (Milstein et al., 1983, Nature 305:537-540). Хотя полученная гибридная гибридома или квадрома действительно продуцировала биспецифические антитела, они получались только в незначительной популяции и требовалась длительная очистка для выделения требуемого антитела. Техническим решением этой проблемы было применение фрагментов антител для получения биспецифических антител. Поскольку у таких фрагментов отсутствует сложная четвертичная структура полноразмерного антитела, варибельные легкие и тяжелые цепи можно соединять в одних генетических конструкциях. Было получено множество различных форм фрагментов антител, включая диатела, одноцепочечные диатела, тандемные scFv и Fab₂-биспецифические антитела (Chames & Baty, 2009, mAbs 1[6]:1-9; Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; явным образом включены в данный документ посредством ссылки). Поскольку эти формы могут с высокими уровнями экспрессироваться в бактериях и благодаря малому размеру могут обладать преимуществами, обусловленными удобной проникающей способностью, то они быстро выводятся *in vivo* и могут представлять сложности для производства, связанные с их продукцией и стабильностью. Основная причина этих недостатков заключается в том, что у фрагментов антител обычно отсутствует константный участок антитела со связанными с ним функциональными свойствами, включающими больший размер, высокую стабильность и связывание с различными рецепторами и лигандами Fc, которые обеспечивают длительный период полувыведения из сыворотки (т.е. неонатальный Fc-рецептор FcRn) или служат в качестве сайтов связывания для очистки (т.е. для белка A и белка G).

В более поздней работе предпринята попытка, направленная на преодоление недостатков биспецифических антител на основе фрагментов путем конструирования двойного связывания в формах, подобных полноразмерному антителу (Wu et al., 2007, Nature Biotechnology 25[11]:1290-1297; USSN12/477711; Michaelson et al., 2009, mAbs 1 [2]:128-141; PCT/US2008/074693; Zuo et al., 2000, Protein Engineering 13 [5]:361-367; USSN09/865198; Shen et al., 2006, J Biol Chem 281 [16]: 10706-10714; Lu et al., 2005, J Biol Chem 280 [20]:19665-19672; PCT/US2005/025472, явным образом включены в данный документ посредством ссылки). Этими формами преодолеваются некоторые затруднения, присущие биспецифическим антителам на основе фрагментов антител, главным образом потому, что они содержат Fc-участок. Один существенный недостаток этих форм заключается в том, что они создают новые антигенсвязывающие сайты наверху гомодимерных константных цепей, и связывание с новым антигеном всегда является бивалентным.

Для многих антигенов, которые являются перспективными в качестве сопутствующих мишеней в терапевтической биспецифической форме, скорее требуется моновалентное связывание, чем бивалентное. Для многих иммунных рецепторов клеточная активация осуществляется перекрестным связыванием взаимодействия с моновалентным связыванием. Механизм перекрестного связывания обычно опосредован иммунными комплексами антитело/антиген или осуществляется путем взаимодействия эффекторной клетки с клеткой-мишенью. Например, рецепторы Fc-гамма с низкой аффинностью (FcγR), такие как FcγRIIa, FcγRIIb и FcγRIIIa, моновалентно связываются с Fc-участком антител. Моновалентное связывание не активирует клетки, экспрессирующие эти FcγR; однако при образовании иммунных комплексов или при контакте клетка-клетка рецепторы оказываются перекрестно связанными и собранными в кластеры на поверхности клетки, что приводит к активации. Для рецепторов, отвечающих за опосредование клеточной гибели, например FcγRIIIa на клетках естественных киллеров (NK), происходит перекрестное

связывание рецепторов и клеточная активация, когда эффекторная клетка взаимодействует с клеткой-мишенью в высокоавидной форме (Bowles & Weiner, 2005, *J Immunol Methods* 304:88-99, явным образом включена посредством ссылки). Аналогичным образом, ингибирующий рецептор FcγRIIb на В-клетках снижает активацию В-клеток, только когда он захватывается в иммунный комплекс с В-клеточным рецептором поверхности клеток (BCR), механизм, который опосредован образованием иммунных комплексов растворимых IgG с таким же антигеном, который распознается BCR (Heyman 2003, *Immunol Lett* 88 [2]:157-161; Smith & Clatworthy, 2010, *Nature Reviews Immunology* 10:328-343; явным образом включены посредством ссылки). В качестве другого примера CD3-активация Т-клеток происходит, только когда связанный с ней Т-клеточный рецептор (TCR) захватывает нагруженный антигеном МНС на антигенпрезентирующих клетках в высокоавидном синапсе клетка-клетка (Kuhns et al., 2006, *Immunity* 24:133-139). В действительности неспецифическое бивалентное перекрестное связывание CD3 с использованием анти-CD3 антитела вызывает цитокиновую бурю и токсичность (Perruche et al., 2009, *J Immunol* 183[2]:953-61; Chatenoud & Bluestone, 2007, *Nature Reviews Immunology* 7:622-632; явным образом включены посредством ссылки). Поэтому для практического клинического применения предпочтительным режимом совместного захвата CD3 для перенаправленной гибели клеток-мишеней является моновалентное связывание, которое приводит к активации только при взаимодействии в сопутствующее захваченной мишенью.

CD38, также известный как гидролаза циклической АДФ-рибозы, представляет собой трансмембранный гликопротеин II типа с длинным С-концевым внеклеточным доменом и коротким N-концевым цитоплазматическим доменом. Среди гемопоэтических клеток набор функциональных влияний был приписан CD38-опосредованному сигналингу, включающему обеспечение пролиферации лимфоцитов, высвобождение цитокинов, регуляцию развития и выживания В- и миелоидных клеток и индукцию созревания дендритных клеток. CD38 не регулируется при многих гемопоэтических злокачественных новообразованиях и в клеточных линиях, происходящих из различных гемопоэтических злокачественных новообразований, включающих неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Беркитта (BL), множественную миелому (MM), В-клеточную хроническую лимфоцитарную лейкемию (B-CLL), В- и Т-клеточную острую лимфоцитарную лейкемию (ALL), Т-клеточную лимфому (TCL), острую миелоидную лейкемию (AML), волосатоклеточную лейкемию (HCL), лимфому Ходжкина (HL) и хроническую миелоидную лейкемию (CML). С другой стороны, наиболее примитивные плюрипотентные клетки гемопоэтической системы содержат CD38-. Несмотря на современный прогресс в открытии и разработке противораковых средств, многие формы рака, вовлекающие образование CD38-экспрессирующих опухолей, все еще обладают неблагоприятным прогнозом лечения. Таким образом, существует потребность в усовершенствованных способах лечения таких форм рака.

Поскольку биспецифические антитела, полученные из фрагментов антител, обладают биофизическими и фармакокинетическими ограничениями, то недостаток таких антител, построенных из форм, подобных полноразмерным антителам, заключается в том, что они мультивалентно захватывают сопутствующие антигены-мишени в отсутствие первичного антигена-мишени, приводя к неспецифической активации и потенциальной токсичности. Настоящее изобретение решает эту проблему путем предоставления новых биспецифических антител, направленных на CD3 и CD38.

Краткое описание сущности изобретения

Соответственно в настоящем изобретении предложены гетеродимерные антитела, направленные против CD3 и CD38. В некоторых вариантах реализации изобретения, гетеродимерные антитела содержат первый мономер, содержащий SEQ ID NO:91; второй мономер, содержащий SEQ ID NO:92; и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO:93. В некоторых вариантах реализации изобретения, гетеродимерные антитела содержат первый мономер, содержащий SEQ ID NO:88; второй мономер, содержащий SEQ ID NO:89; и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO:90. В изобретении дополнительно предложены композиции нуклеиновых кислот, содержащие первую, вторую и третью нуклеиновые кислоты, которые кодируют последовательности, приведенные выше, а также векторы экспрессии, содержащие композиции нуклеиновых кислот, клетки-хозяева, содержащие или нуклеиновые кислоты, или векторы экспрессии, а также способы изготовления и применения гетеродимерных антител.

В дополнительном аспекте изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим первый мономер, содержащий: i) первый домен Fc; ii) анти-CD3 scFv, содержащий вариабельный легкий домен scFv, линкер scFv и вариабельный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен к N-концу указанного домена Fc с применением домена-линкера; второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) вариабельный тяжелый домен; и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй домен Fc; и легкую цепь, содержащую вариабельный легкий домен и константный легкий домен. В некоторых аспектах вариабельный легкий домен scFv содержит vLCDR1, имеющий SEQ ID NO:15, vLCDR2, имеющий SEQ ID NO:16, и vLCDR3, имеющий SEQ ID NO:17, указанный вариабельный тяжелый домен scFv содержит vhCDR1, имеющий SEQ ID NO:11, vhCDR2, имеющий SEQ ID NO:12, и vhCDR3, имеющий SEQ ID NO:13, и при этом указанный вариабельный тяжелый домен и указанный вариабельный легкий домен связывают CD38.

В дополнительном аспекте изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а)

первый мономер, содержащий: i) первый домен Fc; ii) анти-CD3 scFv, содержащий переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен к N-концу указанного домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) переменный тяжелый домен; и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй домен Fc; и в) легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен. В данном аспекте, переменный легкий домен scFv содержит vLCDR1, имеющий SEQ ID NO:24, vLCDR2, имеющий SEQ ID NO:25, и vLCDR3, имеющий SEQ ID NO:26, указанный переменный тяжелый домен scFv содержит vhCDR1, имеющий SEQ ID NO:11, vhCDR2, имеющий SEQ ID NO:12, и vhCDR3, имеющий SEQ ID NO:13, и при этом указанный переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38.

В дополнительном аспекте изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первый домен Fc; ii) анти-CD3 scFv, содержащий переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен к N-концу указанного домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) переменный тяжелый домен; и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй домен Fc; и в) легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен. В данном аспекте, переменный легкий домен scFv содержит vLCDR1, имеющий SEQ ID NO:33, vLCDR2, имеющий SEQ ID NO:34, и vLCDR3, имеющий SEQ ID NO:35, указанный переменный тяжелый домен scFv содержит vhCDR1, имеющий SEQ ID NO:29, vhCDR2, имеющий SEQ ID NO:30, и vhCDR3, имеющий SEQ ID NO:31, и причем указанный переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38.

В дополнительном аспекте изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первый домен Fc; ii) анти-CD3 scFv, содержащий переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен к N-концу указанного домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую: i) переменный тяжелый домен; и ii) константный домен тяжелой цепи, содержащий второй домен Fc; и в) легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен. В данном аспекте, переменный легкий домен scFv содержит vLCDR1, имеющий SEQ ID NO:42, vLCDR2, имеющий SEQ ID NO:43, и vLCDR3, имеющий SEQ ID NO:44, указанный переменный тяжелый домен scFv содержит vhCDR1, имеющий SEQ ID NO:38, vhCDR2, имеющий SEQ ID NO:39, и vhCDR3, имеющий SEQ ID NO:40, и причем указанный переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38.

В дополнительном аспекте, гетеродимерные антитела в форме "бутылкооткрывателя" ("bottle opener") по данному изобретению имеют scFv, который связывает CD3 и домены vh и vl, причем переменный легкий домен содержит vLCDR1, имеющий последовательность RASQNVDTWVA (SEQ ID NO:69), vLCDR2, имеющий последовательность SASYRYS (SEQ ID NO:70) и vLCDR3, имеющий последовательность QQYDSYPLT (SEQ ID NO:71), указанный переменный тяжелый домен содержит vhCDR1, имеющий последовательность RSWMN (SEQ ID NO:65), vhCDR2, имеющий последовательность EINPDSSTINYATSVKG (SEQ ID NO:66) и vhCDR3, имеющий последовательность YGNWFPY (SEQ ID NO:67).

В дополнительных вариантах реализации изобретения переменный легкий домен содержит vLCDR1, имеющий последовательность RASQNVDTNVA (SEQ ID NO:78), vLCDR2, имеющий последовательность SASYRYS (SEQ ID NO:79) и vLCDR3, имеющий QQYDSYPLT последовательность (SEQ ID NO:80), причем переменный тяжелый домен содержит vhCDR1, имеющий последовательность RSWMN (SEQ ID NO:74), vhCDR2, имеющий последовательность EINPDSSTINYATSVKG (SEQ ID NO:75) и vhCDR3, имеющий последовательность YGNWFPY (SEQ ID NO:76).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный тяжелый домен; 2) первую константную тяжелую цепь, содержащую первый домен Fc; 3) scFv содержащий переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен к C-концу указанного домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий вторую тяжелую цепь, содержащую второй переменный тяжелый домен и вторую константную тяжелую цепь, содержащую второй домен Fc; и в) общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен; причем указанные первый и второй домены Fc имеют набор аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q, и при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 человека (SEQ ID NO:131), указанный второй переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 человека (SEQ ID NO:131), и указанный scFv связывает CD3 человека (SEQ ID NO: 129).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный

ный тяжелый домен; 2) первый константный тяжелый домен, содержащий первый домен Fc; 3) первый переменный легкий домен, причем указанный первый переменный легкий домен является ковалентно прикрепленным к С-концу указанного первого домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий: i) второй переменный тяжелый домен; ii) второй константный тяжелый домен, содержащий второй домен Fc; и iii) третий переменный тяжелый домен, причем указанный второй переменный тяжелый домен является ковалентно прикрепленным к С-концу указанного второго домена Fc с применением домена-линкера; и в) общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен; причем указанные первый и второй домены Fc имеют набор аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q, и при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 человека (SEQ ID NO:131), указанный второй переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают указанный CD38 человека (SEQ ID NO:131), и указанный второй переменный легкий домен и указанный третий переменный тяжелый домен связывают CD3 человека (SEQ ID NO:129).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный тяжелый домен; 2) первую константную тяжелую цепь, содержащую первый домен CH1 и первый домен Fc; 3) scFv содержащий переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен между С-концом указанного домена CH1 и N-концом указанного первого домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий вторую тяжелую цепь, содержащую второй переменный тяжелый домен, и вторую константную тяжелую цепь, содержащую второй домен Fc; и в) общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен; причем указанные первый и второй домены Fc имеют набор аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q, при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 человека (SEQ ID NO:131), указанный второй переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают указанный CD38 человека (SEQ ID NO:131), и указанный scFv связывает CD3 человека (SEQ ID NO:129).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный тяжелый домен; 2) первый константный тяжелый домен, содержащий первый домен Fc; и 3) первый переменный легкий домен, причем указанный второй переменный легкий домен является ковалентно прикрепленным между С-концом домена CH1 указанного первого константного тяжелого домена и N-концом указанного первого домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий: i) второй переменный тяжелый домен; ii) второй константный тяжелый домен, содержащий второй домен Fc; и iii) третий переменный тяжелый домен, причем указанный второй переменный тяжелый домен является ковалентно прикрепленным к С-концу указанного второго домена Fc с применением домена-линкера; и в) общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен; причем указанные первый и второй домены Fc имеют набор аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q, при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 человека (SEQ ID NO:131), указанный второй переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают указанный CD38 человека (SEQ ID NO:131), и указанный второй переменный легкий домен и указанный третий переменный тяжелый домен связывают CD3 человека (SEQ ID NO:129).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, содержащим: а) первый мономер, содержащий: i) первую тяжелую цепь, содержащую: 1) первый переменный тяжелый домен; 2) первую константную тяжелую цепь, содержащую первый домен CH1 и первый домен Fc; 3) scFv содержащий переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv является ковалентно прикрепленным между С-концом указанного домена CH1 и N-концом указанного первого домена Fc с применением домена-линкера; б) второй мономер, содержащий второй домен Fc; и в) легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен; причем указанные первый и второй домены Fc имеют набор аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q, при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 человека (SEQ ID NO:131), и указанный scFv связывает CD3 человека (SEQ ID NO:129).

В дополнительном аспекте в некоторых вариантах реализации изобретения гетеродимерные антитела содержат первый домен Fc и второй домен Fc, которые содержат набор вариантов, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K;

T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q.

В дополнительных аспектах scFv содержит линкеры scFv, которые представляют собой заряженные линкеры.

В дополнительных аспектах константный домен тяжелой цепи гетеродимерных антител, описанных в настоящем документе, содержит аминокислотные замены N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D.

В дополнительном аспекте гетеродимерные антитела по изобретению имеют первый и второй домены Fc, которые содержат аминокислотные замены E233P/L234V/L235A/G236del/S267K.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к композиции нуклеиновых кислот, кодирующих гетеродимерные антитела по изобретению, которая содержит: а) первую нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный первый мономер; б) вторую нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный второй мономер; и в) третью нуклеиновую кислоту, кодирующую указанную легкую цепь.

В дополнительном аспекте изобретение относится к композиции векторов экспрессии, содержащей: а) первый вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный первый мономер; б) второй вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный второй мономер; и в) третий вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанную легкую цепь. В изобретении дополнительно предложены клетки-хозяева, содержащие или композиции нуклеиновых кислот или композиции векторов экспрессии.

В изобретении дополнительно предложены способы создания гетеродимерных антител, включающие культивирование клеточных хозяев в условиях, в которых указанное антитело экспрессируется, и получение указанного антитела.

В изобретении дополнительно предложены способы лечения рака, включающие введение гетеродимерного антитела по изобретению пациенту, нуждающемуся в этом.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1А и 1В иллюстрируют несколько форм (антител) по настоящему изобретению. Изображены два варианта "бутилкооткрывающей" формы, один с антигенсвязывающим доменом анти-CD3, содержащим scFv, и антигенсвязывающим доменом-CD38, содержащим Fab, и другой с этими же, но представленными доменами. Изображены формы mAb-Fv, mAb-scFv, Central-scFv и Central-Fv. Дополнительно, изображены "одноплечевые" формы, в которых один мономер содержит только домен Fc, -как одноплечевой Central-scFv, так и одноплечевой Central-Fv. Также показана форма с двойным scFv.

Фиг. 2 иллюстрирует последовательности конструкции "High CD3" анти-CD3_H1.30_L1.47, в том числе переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут). Как и в случае всех последовательностей, изображенных на чертежах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, по мере необходимости.

Фиг. 3 иллюстрирует последовательности конструкции "High-Int #1" анти-CD3_H1.32_L1.47, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут). Как и в случае всех последовательностей, изображенных на чертежах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, по мере необходимости.

Фиг. 4 иллюстрирует последовательности конструкции "High-Int #2" анти-CD3_H1.89_L1.47, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут). Как и в случае всех последовательностей, изображенных на чертежах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, по мере необходимости.

Фиг. 5 иллюстрирует последовательности конструкции "High-Int #3" анти-CD3_H1.90_L1.47, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут). Как и в случае всех последовательностей, изображенных на чертежах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, по мере необходимости.

Фиг. 6 иллюстрирует последовательности конструкции "Int" анти-CD3_H1.90_L1.47, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут). Как и в случае всех последовательностей, изображенных на чертежах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, по мере необходимости.

Фиг. 7 иллюстрирует последовательности конструкции "Low" Anti-CD3_H1.31_L1.47, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут). Как и в случае всех последовательностей, изображенных на чертежах, этот заряженный линкер может быть заменен незаряженным линкером или другим заряженным линкером, по мере необходимости.

Фиг. 8 иллюстрирует последовательности конструкции High CD38: OKT10_H1.77_L1.24, в том числе переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут).

Фиг. 9 иллюстрирует последовательности конструкции Intermediate CD38: ОКТ10_H1L1.24, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут).

Фиг. 10 иллюстрирует последовательности конструкции Low CD38: ОКТ10_H1L1, включая переменные тяжелые и легкие домены (подчеркнуты CDR), а также отдельные vl и vhCDR, а также конструкцию scFv с заряженным линкером (дважды подчеркнут).

Фиг. 11 иллюстрирует последовательности XENP15331.

Фиг. 12 иллюстрирует последовательности XENP13243.

Фиг. 13 иллюстрирует последовательности XENP14702.

Фиг. 14 иллюстрирует последовательности XENP1542 6.

Фиг. 15 иллюстрирует последовательности XENP14701.

Фиг. 16 иллюстрирует последовательности XENP14703.

Фиг. 17 иллюстрирует последовательности XENP13243.

Фиг. 18 иллюстрирует последовательности XENP18967.

Фиг. 19 иллюстрирует последовательности XENP18971.

Фиг. 20 иллюстрирует последовательности XENP18969.

Фиг. 21 иллюстрирует последовательности XENP18970.

Фиг. 22 иллюстрирует последовательности XENP18972.

Фиг. 23 иллюстрирует последовательности XENP18973.

Фиг. 24 иллюстрирует последовательности XENP15055.

Фиг. 25 иллюстрирует последовательности XENP13544.

Фиг. 26 иллюстрирует последовательности XENP13694.

Фиг. 27 иллюстрирует последовательности CD3 ε человека.

Фиг. 28 иллюстрирует полную последовательность (SEQ ID NO:130) и внеклеточный домен (ECD; SEQ ID NO:131) белка CD38 человека.

Фиг. 29А-29Е иллюстрируют полезные пары наборов вариантов гетеродимеризации (включая ассиметричные и рI варианты).

Фиг. 30 иллюстрирует список изостерических вариантов константных областей вариантного антигена и их соответствующих замены. рI₋(-) обозначает более низкие варианты рI, в то время как рI₍₊₎ обозначает более высокие варианты рI. Они могут быть необязательно и независимо скомбинированы с другими вариантами гетеродимеризации по изобретению (а также другими типами вариантов, как описано в настоящем документе).

Фиг. 31 иллюстрирует полезные варианты абляций, которые аблируют связывание FcγR (иногда упоминаются как "нокаутные" или "КО" варианты).

Фиг. 32 иллюстрирует два особенно полезных варианта реализации настоящего изобретения.

Фиг. 33 иллюстрирует ряд заряженных линкеров scFv, которые находят применение в увеличении или уменьшении рI гетеродимерных антител, которые используют один или более scFv в качестве компонента. Один линкер scFv известного уровня техники с одиночным зарядом упоминается как "Whitlow", в Whitlow et al., Protein Engineering 6(8):989-995 (1993). Следует отметить, что данный линкер применяли для снижения агрегации и усиления протеолитической стабильности scFv.

Фиг. 34 иллюстрирует список сконструированных вариантов гетеродимерных ассиметричных Fc с процентом гетеродимера (определяется с помощью катионообменной ВЭЖХ) и термостабильностью (определена по ДСК). Термическая стабильность, которая не была определена, обозначается как "н.о."

Фиг. 35 - выход экспрессии биспецификов после аффинной очистки с помощью белка А.

Фиг. 36 - хроматограммы катионообменной очистки.

Фиг. 37 - анализ перенаправленной цитотоксичности Т-клеток, 24 ч инкубации, 10 тыс. клеток RPMI8226, 400 тыс. Т-клеток. Тестовые образцы представляют собой биспецифические антитела анти-CD38 х анти-CD3. Обнаружение проводили с помощью ЛДГ.

Фиг. 38 - анализ перенаправленной цитотоксичности Т-клеток, 24 ч инкубации, 10 тыс. клеток RPMI8226, 500 тыс. человеческих МКПК (Мононуклеарные Клетки Периферической Крови). Тестовые образцы представляют собой биспецифические антитела анти-CD38 х анти-CD3. Определение проводили с помощью ЛДГ.

Фиг. 39 - иллюстрирует последовательности XENP14419.

Фиг. 40 - иллюстрирует последовательности XENP14420.

Фиг. 41 - иллюстрирует последовательности XENP14421.

Фиг. 42 - иллюстрирует последовательности XENP14422.

Фиг. 43 - иллюстрирует последовательности XENP14423.

Фиг. 44 - анализ перенаправленной цитотоксичности Т-клеток, 96 ч инкубации, 40 тыс. клеток RPMI8226, 400 тыс. МКПК (Мононуклеарные Клетки Периферической Крови) человека. Тестовые образцы представляют собой анти-CD38 х анти-CD3 Fab-scFv-Fcs. Обнаружение проводилось методом проточной цитометрии, в частности по исчезновению CD38+ клеток.

Фиг. 45 - дополнительный анализ перенаправленной цитотоксичности Т-клеток, проиллюстрирован на фиг. 1. Первый ряд показывает Среднюю Интенсивность Флуоресценции (СИФ) маркера активации CD69 на Т-клетках CD4⁺ и CD8⁺, как обнаружено с помощью проточной цитометрии. Второй ряд показывает процент Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺, которые представляют собой Ki-67⁺, меру пролиферации клеток. Третий ряд показывает внутриклеточную Среднюю Интенсивность Флуоресценции (СИФ) PI-9 - ингибитора гранзима В на Т-клетках CD4⁺ и CD8⁺, как обнаружено с помощью проточной цитометрии.

Фиг. 46 - план исследования на мышах для изучения противоопухолевой активности анти-CD38 х анти-CD3-Fab-scFv-Fc биспецификов.

Фиг. 47 - размер опухоли, измеренный с помощью IVIS®, как функция времени и лечения.

Фиг. 48 - биолюминесцентные изображения IVIS® (день 10).

Фиг. 49 - истощение CD38⁺ клеток у яванских макаков после введения однократной дозы указанных тестовых образцов.

Фиг. 50 - активация Т-клеток, измеренная с помощью Средней Интенсивности Флуоресценции (СИФ) CD69 у яванских макаков, цветовые обозначения как на фиг. 49.

Фиг. 51 - сывороточные уровни ИЛ-6 после введения однократной дозы указанных тестовых образцов.

Фиг. 52 - иллюстрирует последовательности XENP15427.

Фиг. 53 - иллюстрирует последовательности XENP15428.

Фиг. 54 - иллюстрирует последовательности XENP15429.

Фиг. 55 - иллюстрирует последовательности XENP15430.

Фиг. 56 - иллюстрирует последовательности XENP15431.

Фиг. 57 - иллюстрирует последовательности XENP15432.

Фиг. 58 - иллюстрирует последовательности XENP15433.

Фиг. 59 - иллюстрирует последовательности XENP15434.

Фиг. 60 - иллюстрирует последовательности XENP15435.

Фиг. 61 - иллюстрирует последовательности XENP15436.

Фиг. 62 - иллюстрирует последовательности XENP15437.

Фиг. 63 - иллюстрирует последовательности XENP15438.

Фиг. 64 - иллюстрирует значения аффинности связывания в анализе Biacore.

Фиг. 65 - иллюстрирует чистоту гетеродимера во время образования стабильного пула с применением изменяемых соотношений легкой цепи, Fab-Fc и scFv-Fc.

Фиг. 66 - истощение IgM и IgG2 человека под действием анти-CD38 х анти-CD3 биспецифических антител в мышинной модели с МКПК человека.

Фиг. 67 - иллюстрирует оптимизированные по стабильности, гуманизированные варианты анти-CD3 scFv. Замены приведены по отношению к последовательности scFv H1_L1.4. Аминокислотная нумерация представляет собой нумерацию Кабата.

Фиг. 68 - аминокислотные последовательности оптимизированных по стабильности, гуманизированных вариантов анти-CD3 scFv. CDR подчеркнуты. Для каждой комбинации тяжелой цепи/легкой цепи, перечислены четыре последовательности: (i) scFv с С-концевой 6xHis частью, (ii) только scFv, (iii) только VH, (iv) только VL.

Фиг. 69 - анализ перенаправленной цитотоксичности Т-клеток, 24 ч инкубации, 10 тыс. клеток RPMI8226, 500 тыс. МКПК. Тестовые образцы представляют собой анти-CD38 (ОКТ10_H1L1, ОКТ10_H1.77_L1.24) х анти-CD3 Fab-scFv-Fcs. Определение проводили с помощью ЛДГ.

Фиг. 70 - истощение Ig в исследовании на huPBL-SCID (модель, предполагающая введение лимфоцитов периферической крови человека мышам с тяжелым комбинированным иммунодефицитом). Тестовые образцы вводили через 8 дней после приживления МКПК в дозах 0,03, 0,3 или 3 мг/кг. Путь введения был внутрибрюшинный. Образцы крови брали через 14 дней после приживления РВМС, обрабатывали сывороткой и анализировали на человеческие IgM и IgG2.

Фиг. 71 - иллюстрирует последовательности XENP18967 Anti-CD38.

Фиг. 72 - иллюстрирует последовательности XENP18971.

Фиг. 73 - иллюстрирует последовательности XENP18969.

Фиг. 74 - иллюстрирует последовательности XENP18970.

Фиг. 75 - иллюстрирует последовательности XENP18972.

Фиг. 76 - иллюстрирует последовательности XENP18973.

Фиг. 77 - иллюстрирует матрицу возможных комбинаций для вариантов реализации настоящего изобретения. "А" означает, что CDR, упоминаемых последовательностей CD3, могут быть объединены с CDR конструкции CD38 по левой стороне. То есть, например, для верхней левой ячейки, vhCDR из последовательности H1.30 варибельной тяжелой цепи CD3 и vlCDR из последовательности L1.47 варибельной легкой цепи CD3 могут быть скомбинированы с vhCDR из последовательности ОКТ10_H1.77 CD38 и с vlCDR из последовательности ОКТ10L1.24. "В" означает, что CDR из конструкций CD3 могут быть скомбинированы с варибельными тяжелыми и легкими доменами из конструкции CD38. То есть,

например, для верхней левой ячейки, *vhCDR* из последовательности H1.30 перевернута, таким образом, что переменный тяжелый домен и переменный легкий домен из последовательностей CD3 применяют с CDR, из последовательностей CD38. А "D" - это где комбинируют как переменная тяжелая, так и переменная легкая цепь из каждого. "E" - это где *scFv* из CD3 применяют с CDR конструкции антиген-связывающего домена CD38 и "F" - это где *scFv* CD3 применяют с переменными тяжелыми и переменными легкими доменами антиген-связывающего домена CD38.

Описание сущности изобретения

Определения.

Для того чтобы можно было в более полной мере понять данную заявку, ниже изложены несколько определений. Такие определения охватывают грамматические эквиваленты.

"Абляция" в данном документе означает снижение или исключение активности. Так, например, "абляция связывания *FcγR*" означает, что аминокислотный вариант *Fc*-участка имеет менее 50% исходного связывания по сравнению с *Fc*-участком, не содержащим специфический вариант, предпочтительно с менее чем 70-80-90-95-98% потерей активности, и в целом с активностью ниже уровня выявляемого связывания при анализе *Biacore*. Особенно полезными в абляции связывания *FcγR* являются те, что указаны на фиг. 16.

"АЗКЦ", или "антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность", в данном документе означает клеточноопосредованную реакцию, при которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют *FcγR*, распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают лизис клетки-мишени. АЗКЦ коррелирует со связыванием с *FcγRIIIa*; а повышенное связывание с *FcγRIIIa* приводит к повышению активности АЗКЦ.

"АЗКФ", или "антителозависимый клеточноопосредованный фагоцитоз", в данном документе означает клеточноопосредованную реакцию, при которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют *FcγR*, распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают фагоцитоз клетки-мишени.

"Модификация" в данном документе означает аминокислотную замену, инсерцию и/или делецию в полипептидной последовательности или изменение фрагмента, химически связанного с белком. Например, модификация может быть проведена изменением углевода или ПЭГ-структуры, присоединенной к белку.

"Аминокислотная модификация" в данном документе означает аминокислотную замену, инсерцию и/или делецию в полипептидной последовательности. Для ясности, если не указано иное, аминокислотная модификация всегда относится к аминокислоте, кодированной ДНК, например 20 аминокислот, которые имеют кодоны в ДНК и РНК.

"Аминокислотная замена" или "замена" в данном документе означает замену аминокислоты в конкретном положении в первичной полипептидной последовательности другой аминокислотой. В частности, в некоторых вариантах реализации изобретения замена представляет собой аминокислоту, которая не встречается в природе в конкретном положении, не встречается в природе ни в данном организме, ни в каком-либо организме. Например, замена E272Y относится к вариантному полипептиду, в случае которой *Fc*-вариант, в котором глутаминовая кислота находится в положении 272, заменяется тирозином. Для ясности, белок, который сконструирован для изменения кодирующей нуклеотидной последовательности, но без изменения исходной аминокислоты (например, изменение CGG (кодирующий аргинин) на CGA (также кодирующий аргинин) для увеличения уровней экспрессии в организме-хозяине), не является белком с "аминокислотной заменой"; а именно, несмотря на создание нового гена, кодирующего такой же белок, если белок имеет такую же аминокислоту в конкретном положении, с которого он начинается, то это не аминокислотная замена.

"Аминокислотная инсерция" или "инсерция" в данном документе означает добавление к аминокислотной последовательности в конкретном положении в первичной полипептидной последовательности. Например, -233E или 233E обозначает инсерцию глутаминовой кислоты после положения 233 и перед положением 234. Кроме того, -233ADE или A233ADE обозначает вставку AlaAspGlu после позиции 233 и 234 до положения.

"Аминокислотная делеция" или "делеция" в данном документе означает удаление из аминокислотной последовательности в конкретном положении в первичной полипептидной последовательности. Например, E233- или E233# или E233() обозначает удаление глутаминовой кислоты в положении 233. Кроме того, EDA233- или EDA233# обозначает удаление последовательности GluAspAla, которая начинается в позиции 233.

"Вариантный белок", или "вариант белка", или "вариант" в данном документе означает белок, который отличается от первичного белка благодаря одной аминокислотной модификации. Вариант белка может относиться к самому белку, композиции, содержащей белок, или аминокислотной последовательно-

сти, которая его кодирует. Предпочтительно, чтобы вариант белка имел по меньшей мере одну аминокислотную модификацию по сравнению с первичным белком, например от около одной до около семи-десяти аминокислотных модификаций, и предпочтительно от около одной до около пяти аминокислотных модификаций по сравнению с начальным. Как описано ниже, в некоторых вариантах реализации изобретения первичный полипептид, например первичный Fc-полипептид, представляет собой последовательность человека дикого типа, такую как Fc-участок из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, хотя последовательности человека с вариантами также могут служить в качестве "первичных полипептидов", например IgG1/2 гибрид фиг. 19. Последовательность варианта белка в данном документе предпочтительно будет обладать по меньшей мере около 80% идентичности с последовательностью первичного белка, и предпочтительнее всего по меньшей мере около 90% идентичности, предпочтительнее по меньшей мере около 95-98-99% идентичности. Вариантный белок может относиться к самому вариантному белку, композиции, содержащим вариант белка, или последовательности ДНК, которая его кодирует. Соответственно "вариант антитела" или "вариантное антитело" в данном документе означает антитело, которое отличается от первичного антитела благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации, "вариант IgG" или "вариантный IgG" в данном документе означает антитело, которое отличается от первичного IgG (снова, во многих случаях, от последовательности IgG человека) благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации, и "вариант иммуноглобулина" или "вариантный иммуноглобулин" в данном документе означает иммуноглобулиновую последовательность, которая отличается от такой последовательности первичного иммуноглобулина благодаря по меньшей мере одной аминокислотной модификации. "Fc-вариант" или "вариантный Fc" в данном документе означает белок, содержащий аминокислотную модификацию в Fc-домене. Fc-варианты по настоящему изобретению определяют в соответствии с аминокислотными модификациями, которые их составляют. Таким образом, например, N434S или 434S представляет собой Fc-вариант с замененным серином в положении 434 относительно первичного Fc-полипептида, в котором используется нумерация в соответствии с индексом EU. Аналогичным образом, M428L/N434S определяет Fc-вариант с заменами M428L и N434S относительно первичного Fc-полипептида. WT Идентичность аминокислоты ДТ может быть неустановленной, в таком случае вышеуказанный вариант называется 428L/434S. Следует отметить, что порядок, в котором предлагается введение замен, является произвольным, а именно для подтверждения этого, например 428L/434S представляет собой такой же Fc-вариант, что и M428L/N434S, и т.д. Для всех положений, обсуждаемых в настоящем изобретении, которое относится к антителам, если не указано иное, нумерация положения аминокислот производится в соответствии с индексом EU. Индекс EU, или EU-индекс, как в схеме нумерации Кабата, или EU, относится к нумерации антитела EU (Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85, в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки). Модификация может быть добавлением, делецией или заменой. Замены могут включать встречающиеся в природе аминокислоты и, в некоторых случаях, синтетические аминокислоты. Примеры включают патенты США № 6586207; WO 98/48032; WO 03/073238; US 2004-0214988A1; WO05/35727A2; WO 05/74524A2; J. W. Chin et al., (2002), Journal of the American Chemical Society 124:9026-9027; J.W. Chin и P.G. Schultz, (2002), ChemBioChem 11:1135-1137; J.W. Chin, et al., (2002), PICAS United States of America 99:11020-11024 и L. Wang и P.G. Schultz, (2002), Chem. 1-10, все включены в полном объеме посредством ссылки.

В данном документе "белок" означает по меньшей мере две ковалентно присоединенные аминокислоты, которые включают белки, полипептиды, олигопептиды и пептиды. Пептидная группа может содержать встречающиеся в природе аминокислоты и пептидные связи, или синтетические пептидомиметические структуры, т.е. "аналоги", такие как пептидоиды (см. Simon et al., PNAS USA 89(20):9367 (1992), в полном объеме включена посредством ссылки). Аминокислоты могут быть как встречающиеся в природе, так и синтетические (например, могут не являться аминокислотой, которая кодируется ДНК); как ясно специалистам в данной области. Например, для целей данного изобретения гомофенилаланин, цитруллин, орнитин и норлейцин считаются синтетическими аминокислотами и могут использоваться обе D- и L-(R или S) конфигурации аминокислот. Варианты по настоящему изобретению могут содержать модификации, которые включают применение синтетических аминокислот, включенных с использованием, к примеру, технологий, разработанных Schultz и коллегами, включая, но не ограничиваясь этим, способы, описанные Cropp & Shultz, 2004, Trends Genet. 20(12):625-30, Anderson et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA 101 (2):7566-71, Zhang et al., 2003, 303(5656):371-3 и Chin et al., 2003, Science 301(5635):964-7, все включены в полном объеме посредством ссылки. В дополнение к этому, полипептиды могут включать синтетическую дериватизацию одной или более боковых цепей или концов, гликозилирование, ПЭГилирование, кольцевую пермутацию, циклизацию, использование линкеров с другими молекулами, слияние с белками или белковыми доменами и добавление пептидных маркеров или меток.

"Остаток" в данном документе означает положение в белке и связанную с ним аминокислотную идентичность. Например, аспарагин 297 (также называемый Asn297 или N297) представляет собой остаток в положении 297 в антителе человека IgG1.

"Fab" или "Fab-участок" в данном документе означает полипептид, который содержит иммуноглобулиновые домены VH, CH1, VL и CL. Fab может относиться к этому участку в отдельности, или этот участок понимается в контексте полноразмерного антитела, фрагмента антитела или Fab-белка слияния.

"Fv", или "Fv-фрагмент", или "Fv-участок" в данном документе означает полипептид, который содержит VL- и VH-домены одного антитела. Как будет понятно специалистам в данной области, они обычно состоят из двух цепей.

"Модификация подкласса IgG" или "изотипная модификация" в данном документе означает аминокислотную модификацию, которая превращает одну аминокислоту одного изотипа IgG в соответствующую аминокислоту другого выровненного изотипа IgG. Например, поскольку IgG1 содержит тирозин, а IgG2 - фенилаланин в положении EU 296, то замена F296Y в IgG2 считается модификацией подкласса IgG.

"Не встречающаяся в природе модификация" в данном документе означает аминокислотную модификацию, которая не является изотипической. Например, поскольку ни один из IgG не содержит серин в положении 434, то замена 434S в IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 (или их гибриды) считается не встречающейся в природе модификацией.

"Аминокислота" или "аминокислотная идентичность" в данном документе означает одну из 20 встречающихся в природе аминокислот, которые кодируются ДНК или РНК.

"Эффекторная функция" в данном документе означает биохимическое событие, которое происходит в результате взаимодействия Fc-участка антитела с рецептором или лигандом Fc. Эффекторные функции включают, но не ограничиваются ими, АЗКЦ, АЗКФ и КЗЦ.

"Fc-лиганд IgG" в данном документе означает молекулу, предпочтительно полипептид, полученную из любого организма, которая связывается с Fc-участком IgG-антитела с образованием Fc/Fc-лигандного комплекса. Fc-лиганды включают, но не ограничиваются ими, FcγRI, FcγRII, FcγRIII, FcRn, C1q, C3, маннансвязывающий лектин, рецептор маннозы, стафилококковый белок А, стрептококковый белок G и вирусный FcγR. Fc-лиганды также включают гомологи рецепторов Fc (FcRH), представляющие собой семейство рецепторов Fc, которые гомологичны FcγR (Davis et al., 2002, Immunological Reviews 190:123-136, включена в полный объем посредством ссылки). Fc-лиганды могут включать неоткрытые молекулы, которые связывают Fc. В частности, Fc-лиганды IgG представляют собой рецепторы FcRn и Fc гамма. "Fc-лиганд" в данном документе означает молекулу, предпочтительно полипептид, полученную из любого организма, которая связывается с Fc-участком антитела с образованием Fc/Fc-лигандного комплекса.

"Fc-гамма рецептор", "FcγR" или "Fc-гамма-R" в данном документе означает любого представителя семейства белков, которые связывают Fc-участок IgG-антитела и кодируются геном FcγR. Для человека это семейство включает, но не ограничивается FcγRI (CD64), включая изоформы FcγRIa, FcγRIb и FcγRIc; FcγRII (CD32), включая изоформы FcγRIIa (включая аллотипы H131 и R131), FcγRIIb (включая FcγRIIb-1 и FcγRIIb-2) и FcγRIIc; и FcγRIII (CD16), включая изоформы FcγRIIIa (включая аллотипы V158 и F158) и FcγRIIIb (включая аллотипы FcγRIIb-NA1 и FcγRIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, полностью включенные в качестве ссылки), а также любые неоткрытые человеческие FcγRs или FcγR изоформы или аллотипы. FcγR может быть получен из любого организма, включая, но не ограничиваясь, людьми, мышами, крысами, кроликами и обезьянами. Мышиные FcγR включают, но не ограничиваются лишь этими: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16) и FcγRIII-2 (CD16-2), а также любые неоткрытые мышиные FcγRs или FcγR-изоформы или аллотипы.

"FcRn" или "неонатальный рецептор Fc" в данном документе означает белок, который связывает Fc-участок IgG-антитела и кодируется, по меньшей мере, частично геном FcRn. FcRn могут быть получены из любого организма, включая, но не ограничиваясь лишь этими: людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян. Как известно в данной области техники, функциональный белок FcRn содержит два полипептида, часто называемые тяжелой цепью и легкой цепью. Легкая цепь представляет собой бета-2 микроглобулин, а тяжелая цепь кодируется геном FcRn. Если в данном документе не указано иное, белок FcRn или FcRn относится к комплексу тяжелой цепи FcRn с бета-2 микроглобулином. Для увеличения связывания с рецептором FcRn и в некоторых случаях для увеличения периода полувыведения из сыворотки применяется множество вариантов FcRn, которые показаны в условных обозначениях к фиг. 83.

"Первичный полипептид" в данном документе означает исходный полипептид, который впоследствии модифицируется для получения варианта. Первичный полипептид может быть встречающимся в природе полипептидом, или вариантом, или сконструированной версией встречающегося в природе полипептида. Первичный полипептид может относиться к самому полипептиду, композициям, которые содержат первичный полипептид, или аминокислотной последовательности, которая его кодирует. Соответственно "первичный иммуноглобулин" в данном документе означает немодифицированный иммуноглобулиновый полипептид, который модифицируется для получения варианта, а "первичное антитело" в данном документе означает немодифицированное антитело, которое модифицируется для получения вариантного антитела. Следует отметить, что "первичное антитело" включает известные коммерческие, полученные рекомбинантным способом антитела, как описано ниже.

"Fc", или "Fc-участок", или "Fc-домен" в данном документе означает полипептид, содержащий константный участок антитела, за исключением первого домена константного участка иммуноглобулина, и, в некоторых случаях, часть шарнира. Таким образом, Fc относится к последним двум доменам константных участков иммуноглобулинов IgA, IgD и IgG, последним трем доменам константных участков имму-

ноглобулинов IgE и IgM, и к гибкому шарниру N-конца у этих доменов. Для IgA и IgM, Fc может включать J-цепь. Для IgG домен Fc включает иммуноглобулиновые домены C γ 2 и C γ 3 (C γ 2 и C γ 3) и нижнюю шарнирную область между C γ 1 (C γ 1) и C γ 2 (C γ 2). Хотя границы Fc-участка могут изменяться, Fc-участок тяжелой цепи IgG человека обычно определяется как включающий остатки C226 или P230 на своем карбоксильном конце, причем нумерация проводится в соответствии с индексом EU, как и по Кабату. В некоторых вариантах реализации изобретения, как более полно описано ниже, аминокислотные модификации осуществлены в Fc-участке, например, для изменения связывания с одним или более рецепторами Fc γ R или с рецептором FcRn.

Термин "тяжелая константная область" здесь означает CH1-шарнир-CH2-CH3-часть антитела.

"Fc-белок слияния" или "иммуноадгезин" в данном документе означает белок, содержащий Fc-участок, обычно связанный (необязательно через линкерный фрагмент, как описано в данном документе) с другим белком, таким как фрагмент связывания с белком-мишенью, как описано в данном документе. В некоторых случаях, один мономер гетеродимерного антитела содержит тяжелую цепь антитела (или содержащий scFv или дополнительно содержащий легкую цепь), а другой мономер представляет собой Fc-гибрид, содержащий вариант Fc-домена и лиганд. В некоторых вариантах реализации изобретения, эти "наполовину антитело - наполовину гибридные белки" называются "гибридотелами".

"Положение" в данном документе означает локализацию в последовательности белка. Положения могут нумероваться последовательно или в соответствии с установленной формой, например, индексом EU для нумерации антител.

"Антиген-мишень" в данном документе означает молекулу, которая специфически связывается варибельным участком данного антитела. Антиген-мишень может быть белком, углеводом, липидом или другим химическим соединением. Широкий ряд подходящих антигенов-мишеней описан ниже.

"Цепочечность" в контексте мономеров гетеродимерных антител по настоящему изобретению в данном документе означает, что аналогично двум цепям ДНК, которые "совместимы", гетеродимеризационные варианты включаются в каждый мономер так, что сохраняется способность "совмещаться" для образования гетеродимеров. Например, если несколько pI-вариантов сконструированы в мономере A (например, создание более высокой pI), то стерические варианты, которые представляют собой "заряженные пары", что могут использоваться, а также не влиять на pI-варианты, например заряженные варианты, которые делают pI более высокой, помещают на ту же "цепь" или "мономер" для сохранения обеих функций. Аналогичным образом, для "ассиметричных" вариантов, которые входят в пары набора, как более полно описано ниже, квалифицированный специалист рассмотрит pI при принятии решения о том, в какую цепочку или мономер, который включает один набор пары войдет эта пара, так что разделение pI максимизируется с применением также pI ассиметричностей.

"Клетка-мишень" в данном документе означает клетку, которая экспрессирует антиген-мишень.

"Варибельный участок" в данном документе означает участок иммуноглобулина, который содержит один или более Ig-доменов, в основном кодированных любым из V.каппа., V.лямбда, и/или VH-генами, которые создают каппа, лямбда и тяжелую цепь иммуноглобулиновых генетических локусов соответственно.

"Дикий тип или ДТ" в данном документе означает аминокислотную последовательность или нуклеотидную последовательность, которая обнаружена в природе, включая аллельные вариации. Белок ДТ имеет аминокислотную последовательность или нуклеотидную последовательность, которая не была намеренно модифицирована.

Антитела по настоящему изобретению обычно являются выделенными или рекомбинантными. "Выделенный", когда используется для описания различных полипептидов, описанных в данном документе, обозначает полипептид, который идентифицирован и отделен и/или выделен из клетки или клеточной культуры, в которой он был экспрессирован. Как правило, выделенный полипептид будет получен с использованием по меньшей мере одной стадии очистки. "Выделенное антитело" относится к антителу, которое практически свободно от других антител, имеющих разные антигенные специфичности. "Рекомбинантный" означает, что антитела генерируются с использованием методов рекомбинантной нуклеиновой кислоты в экзогенных клетках-хозяевах.

"Специфическое связывание", или "специфически связывается с", или является "специфическим к" конкретному антигену или эпитопу, означает связывание, которое измеряемо отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание может измеряться, к примеру, определением связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая обычно представляет собой молекулу со сходной структурой, которая не имеет активности связывания. Например, специфическое связывание может определяться конкуренцией с контрольной молекулой, которая сходна с мишенью.

Специфическое связывание может проявляться для конкретного антигена или эпитопа, например, тем, что антитело имеет значение KD для антигена или эпитопа по меньшей мере около 10⁻⁴ M, по меньшей мере около 10⁻⁵ M, по меньшей мере около 10⁻⁶ M, по меньшей мере около 10⁻⁷ M, по меньшей мере около 10⁻⁸ M, по меньшей мере 10⁻⁹ M, в альтернативном варианте по меньшей мере около 10⁻¹⁰

M, по меньшей мере около 10-11 M, по меньшей мере около 10-12 M, или больше, если KD относится к степени диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Как правило, антитело, которое специфически связывает антиген, будет иметь значение KD, которое в 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5000-, 10000- или больше раз больше для контрольной молекулы относительно антигена или эпитопа.

Также может проявляться специфическое связывание конкретного антигена или эпитопа, например, антителом, имеющим KA или Ka для антигена или эпитопа по меньшей мере в 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5000-, 10000- или еще больше раз для эпитопа относительно контроля, где KA или Ka относится к скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

II. Обзор.

Биспецифические антитела, которые одновременно взаимодействуют с CD3 и опухолевым антиген-мишенью, были сконструированы и применены для перенаправления Т-клеток на опухолевые клетки-мишени для атаки и лизиса. Примеры включают формы BiTE и DART, которые моновалентно взаимодействуют с CD3 и опухолевым антигеном. Несмотря на то, что CD3-нацеливающий подход продемонстрировал значительные перспективы, общим побочным эффектом таких методов лечения является сопутствующая продукция цитокинов, что часто приводит к синдрому токсического высвобождения цитокинов. Поскольку анти-CD3-связывающий домен биспецифического антитела взаимодействует со всеми Т-клетками, привлекается подгруппа CD4 Т-клеток, продуцирующих большие количества цитокинов. Более того, подкласс CD4 Т-клеток включает регуляторные Т-клетки, привлечение и размножение которых потенциально может привести к подавлению иммунитета и иметь негативное влияние на длительное подавление опухоли. Кроме того, эти формы не содержат доменов Fc и показывают очень короткие сывороточные периоды полувыведения у пациентов.

Несмотря на то что CD3-нацеливающий подход продемонстрировал значительные перспективы, общий побочный эффект таких методов лечения связан с производством цитокинов, что часто приводит к синдрому токсического цитокинового высвобождения. Поскольку анти-CD3-связывающий домен биспецифического антитела взаимодействует со всеми Т-клетками, привлекается подгруппа CD4 Т-клеток, продуцирующих высокие количества цитокинов. Более того, подкласс CD4 Т-клеток включает регуляторные Т-клетки, привлечение и размножение которых потенциально может привести к подавлению иммунитета и иметь негативное влияние на долгосрочное подавление опухоли. Одним из таких возможных способов снижения продуцирования цитокинов и, возможно, снижения активации CD4 Т-клеток является снижение сродства анти-CD3 домена к CD3.

Соответственно в некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предлагаются конструкции антител, содержащие анти-CD3 антигенсвязывающие домены, которые являются "сильными" или "высокоаффинными" связующими CD3 (например, в одном примере описаны тяжелый и легкий вариабельные домены как H1.30_L1.47 (необязательно включающие при необходимости заряженный линкер)) и также которые связываются с CD38. В других вариантах реализации настоящего изобретения предлагаются конструкции антител, содержащие анти-CD3 антигенсвязывающие домены, которые являются "слабыми" или "низкоаффинными" связующими CD3. Дополнительные варианты реализации изобретения относятся к конструкциям антител, содержащим анти-CD3 антигенсвязывающие домены, что имеют промежуточную или "среднюю" аффинность к CD3, что также связываются с CD38.

Следует понимать, что "высокие, средние, низкие" последовательности анти-CD3 по настоящему изобретению могут применяться во множестве разновидностей гетеродимеризационных форм. Хотя большая часть раскрытия в данном документе использует для гетеродимеров форму "бутылкооткрыватель", эти последовательности вариабельных тяжелых и легких цепей, а также последовательности scFv (и последовательности Fab, содержащие эти последовательности вариабельных тяжелых и легких цепей) могут быть применены в других формах, таких как показано на фиг. 2 публикации WO № 2014/145806, чертежи, формы и пояснения условных обозначений которой явно включены в данный документ посредством ссылки.

Соответственно настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, которые связываются с двумя различными антигенами, например антитела являются "биспецифичными", поскольку они связывают два разных антигена-мишени, например CD3 и CD38 в настоящем изобретении. Эти гетеродимерные антитела могут связывать данные антигены-мишени или моновалентно (например, имеется единственный антигенсвязывающий домен, такой как паравариабельный тяжелый домен и вариабельный легкий домен), или бивалентно (имеются два антигенсвязывающих домена, каждый из которых независимо связывает антиген). Гетеродимерные антитела по изобретению основаны на применении различных мономеров, которые содержат аминокислотные замены, что делают "ассиметричной" конструкцию гетеродимеров по отношению к гомодимерам, как это более подробно описано ниже, в сочетании с "вариантами pI", которые позволяют легко очищать гетеродимеры от гомодимеров, как схожим образом описано ниже. Для гетеродимерных биспецифических антител по настоящему изобретению, настоящее изобретение в целом, как правило, основано на применении сконструированных или вариантных доменов Fc, которые могут самособираются в продуцирующих клетках, для получения гетеродимерных белков, и способов получения и очистки таких гетеродимерных белков.

III. Антитела.

Настоящее изобретение относится к получению биспецифичных антител, которые связываются с CD3 и CD38, в целом, как правило, к получению терапевтических антител. Как обсуждается ниже, термин "антитело" применяется обычным образом. Антитела, которые находят применение в настоящем изобретении, могут принимать ряд форм, как описано в данном документе, включая традиционные антитела, а также производные антител, фрагменты и миметики, описанные в данном документе.

Структурные единицы традиционного антитела, как правило, содержат тетрамер. Каждый тетрамер, как правило, состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, каждая пара имеет одну "легкую" (обычно имеющую молекулярную массу около 25 кДа) и одну "тяжелую" цепь (обычно имеющую молекулярную массу около 50-70 кДа). Легкие цепи человека классифицируют как легкие цепи каппа и лямбда. Настоящее изобретение направлено на класс IgG, который имеет несколько подклассов, включающих, но не ограниченных лишь этими: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Таким образом, "изотип" в данном документе означает любой из подклассов иммуноглобулинов, определенных химическими и антигенными свойствами их константных участков. Следует понимать, что терапевтические антитела также могут содержать гибриды изотипов и/или подклассов. Например, как показано в публикации США 2009/0163699, включенной посредством ссылки, настоящее изобретение охватывает μ -конструирование IgG1/G2-гибридов.

Аминоконцевая часть каждой цепи включает вариабельный участок от около 100 до 110 или более аминокислот, главным образом ответственный за распознавание антигена, обычно называемый в данной области техники и в данном документе "Fv-доменом" или "Fv-участком". В вариабельном участке для каждого из V-доменов тяжелой цепи и легкой цепи собраны три петли для того, чтобы сформировать антигенсвязывающий сайт. Каждая из петель называется определяющим комплементарность участком (в дальнейшем называемая "CDR"), в котором вариация в аминокислотной последовательности является наиболее важной. "Вариабельный" относится к тому факту, что среди антител определенные сегменты вариабельного участка значительно отличаются по последовательностям. Вариабельность в пределах вариабельного участка распределяется неравномерно. На самом деле, V-участки состоят из относительно инвариантных промежутков, называемых каркасными участками (FR), из 15-30 аминокислот, разделенных более короткими участками с чрезвычайной вариабельностью, называемыми "гипервариабельными участками", которые составляют в длину 9-15 аминокислот каждый или длиннее.

Каждый VH и VL состоит из трех гипервариабельных участков ("определяющие комплементарность участки", "CDR") и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

Гипервариабельный участок обычно охватывает аминокислотные остатки от около аминокислотных остатков 24-34 (LCDR1; "L" обозначает легкую цепь), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3) на вариабельном участке легкой цепи и приблизительно около 31-35B (HCDR1; "H" обозначает тяжелую цепь), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3) на вариабельном участке тяжелой цепи; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), и/или такие участки, образующие гипервариабельную петлю (например, остатки 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) и 91-96 (LCDR3) на вариабельном участке легкой цепи и 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) и 96-101 (HCDR3) на вариабельном участке тяжелой цепи; Chothia и Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917. Конкретные CDR согласно изобретению описаны ниже.

В настоящем описании, как правило, используется система нумерации Кабата, если относится к остатку в вариабельном домене (приблизительно остатки 1-107 вариабельного участка легкой цепи и остатки 1-113 вариабельного участка тяжелой цепи), и система нумерации ЕС для Fc-областей (например, Kabat et al., см. выше (1991)).

В настоящем изобретении предлагается большое количество различных наборов CDR. В данном случае "полный набор CDR" содержит три вариабельных легких и три вариабельных тяжелых CDR, например vLCDR1, vLCDR2, vLCDR3, vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3. Эти могут быть частью более крупного вариабельного легкого домена и вариабельного тяжелого домена соответственно. Кроме того, как более подробно описано в данном документе, вариабельные тяжелые и вариабельные легкие домены могут находиться в отдельных полипептидных цепях, когда используется тяжелая и легкая цепи (например, когда применяются Fab), или в одной полипептидной цепи в случае последовательностей scFv.

CDR вносят вклад в формирование антигенсвязывающего или, более конкретно, эпитопсвязывающего сайта антител. "Эпитоп" относится к детерминанте, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом в вариабельном участке молекулы антитела, известном как паратоп. Эпитопы группируются из молекул, таких как аминокислоты или сахаридные боковые цепи, и обычно имеют специфические структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Один антиген может иметь более чем один эпитоп.

Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа), и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно не участвуют в связывании, такие как аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфическим антигенсвязывающим пептидом; другими словами, аминокислотный

остаток находится в пределах зоны узнавания специфического антигенсвязывающего пептида.

Эпитопы могут быть как конформационными, так и линейными. Конформационный эпитоп создается пространственно совмещенными аминокислотами из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, созданный соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. Конформационные и неконформационные эпитопы могут различаться в том отношении, что в присутствии денатурирующих растворителей теряется связывание с первыми, но не с последними эпитопами.

Эпитоп обычно включает по меньшей мере 3, а более обычно по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Антитела, которые распознают одинаковый эпитоп, могут быть проверены простым иммуноанализом, например "сортировкой", показывающим способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с антигеном-мишенью.

Карбоксиконцевая часть каждой цепи определяет константную область, главным образом отвечающую за эффекторную функцию. Kabat et al. собрали множество первичных последовательностей вариабельных участков тяжелых цепей и легких цепей. На основании степени консервативности последовательностей они классифицировали отдельные первичные последовательности в CDR и каркас, и составили их перечень (см. SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91-3242, E.A. Kabat et al., включена в полном объеме посредством ссылки).

В подклассе IgG иммуноглобулинов существует несколько иммуноглобулиновых доменов в тяжелой цепи. В данном документе "иммуноглобулиновый (Ig) домен" означает участок иммуноглобулина, имеющий четкую четвертичную структуру. Для настоящего изобретения представляют интерес домены тяжелой цепи, включающие константные тяжелые (CH) домены и шарнирные домены. В контексте IgG-антител каждый из изотипов IgG имеет три CH-участка. Соответственно "CH"-домены в контексте IgG являются следующими: "CH1" относится к положениям 118-220 в соответствии с индексом в соответствии с индексом EU, как и по Кабату. "CH2" относится к положениям 237-340 в соответствии с индексом EU, как и по Кабату, а "CH3" относится к положениям 341-447 в соответствии с индексом EU, как и по Кабату. Как показано в данном документе и описано ниже, pI-варианты могут находиться в одном или более CH-участках так же, как шарнирном участке, как обсуждается ниже.

Следует отметить, что последовательности, изображенные в данном документе, начинаются с CH1-участка, положение 118; вариабельные участки не включаются, за исключением оговоренных случаев. Например, первая аминокислота SEQ ID NO: 2, когда обозначена положением "1" в перечне последовательностей, соответствует положению 118 CH1-участка в соответствии с нумерацией EU.

Другой тип Ig-домена тяжелой цепи представляет собой шарнирный участок. "Шарнир", или "шарнирный участок", или "шарнирный участок антитела", или "шарнирный участок иммуноглобулина" в данном документе означает гибкий полипептид, содержащий аминокислоты между первым и вторым константными доменами антитела. Структурно CH1-домен IgG заканчивается на положении EU 220, а CH2-домен IgG начинается с остатка на положении EU 237. Таким образом, шарнир антитела для IgG в данном документе определяется как включающий положения от 221 (D221 в IgG1) до 236 (G236 в IgG1), причем нумерация соответствует индексу EU, как и по Кабату. В некоторых вариантах реализации изобретения, например, в контексте Fc-участка, включен более низкий шарнир, "более низкий шарнир" в целом относится к положениям 226 или 230. Как отмечается в данном документе, pI-варианты также могут быть осуществлены в шарнирном участке.

Легкая цепь, как правило, содержит два домена, вариабельный легкий домен (содержащий CDR легкой цепи и вместе с вариабельными тяжелыми доменами образующий Fv-участок) и константный участок легкой цепи (часто называемый как CL или Ск).

Другой областью интереса для дополнительных замен, описанных ниже, является область Fc.

Таким образом, в настоящем изобретении предложены различные домены антител. Как описано в данном документе и известно в данной области техники, гетеродимерные антитела по изобретению содержат различные домены в пределах тяжелых и легких цепей, которые также могут перекрываться. Эти домены включают, но не ограничиваются ими, Fc-домен, CH1-домен, CH2-домен, CH3-домен, шарнирный домен, тяжелый константный домен (CH1-шарнир-Fc-домен или CH1-шарнир-CH2-CH3), вариабельный тяжелый домен, вариабельный легкий домен, константный легкий домен, FAb домены и scFv домены.

Таким образом, "Fc-домен" содержит домен -CH2-CH3, и необязательно шарнирный домен. Тяжелая цепь содержит вариабельный тяжелый домен и константный домен, который включает CH1-необязательный шарнир-домен Fc, содержащий CH2-CH3. Легкая цепь содержит вариабельную легкую цепь и константный легкий домен.

Некоторые варианты реализации изобретения включают по меньшей мере один домен scFv, который, хотя и не встречается в природе, в целом, как правило, содержит вариабельный тяжелый домен и вариабельный легкий домен, соединенные вместе scFv-линкером. Как показано в данном документе, существует ряд подходящих scFv-линкеров, которые могут быть использованы, включая традиционные пептидные связи, полученные рекомбинантными методами.

Линкерный пептид преимущественно может содержать следующие аминокислотные остатки: Gly,

Ser, Ala или Thr. Линкерный пептид должен иметь длину, которая является достаточной для связывания двух молекул таким образом, чтобы они приняли правильную конформацию относительно друг друга так, чтобы они сохраняли требуемую активность. В одном варианте реализации изобретения, линкер составляет от около 1 до 50 аминокислот в длину, предпочтительно - от около 1 до 30 аминокислот в длину. В одном варианте реализации изобретения, линкер составляет от около 1 до 20 аминокислот в длину, предпочтительно - от около 5 до 10 аминокислот в длину. Пригодные линкеры включают полимеры глицина-серина, включающие, например, (GS) $_n$, (GS $_{GGGS}$) $_n$, (GGGS) $_n$ и (GGGS) $_n$, где n представляет собой целое число, по меньшей мере единицу (и в целом, как правило, от 3 до 4), полимеры глицина-аланина, полимеры аланина-серина и другие гибкие линкеры. В альтернативном варианте могут находить применение как линкеры множества небелковых полимеров, включающих, но не ограниченных этим, полиэтиленгликоль (ПЭГ), полипропиленгликоль, полиоксипропилены или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, которые могут находить применение в качестве линкеров.

Другие линкерные последовательности могут включать любую последовательность любой длины CL/CH1-домена, но не все остатки CL/CH1-домена; например, первые 5-12 аминокислотных остатков CL/CH1-домена. Линкеры могут быть получены из легкой цепи иммуноглобулина, например С $_k$ или С $_L$. Линкеры могут быть получены из тяжелых цепей иммуноглобулина любого изотипа, включая, например, С $_{\gamma 1}$, С $_{\gamma 2}$, С $_{\gamma 3}$, С $_{\gamma 4}$, С $_{\alpha 1}$, С $_{\alpha 2}$, С $_{\delta}$, С $_{\epsilon}$ и С $_{\mu}$. Линкерные последовательности также могут происходить из других белков, таких как Ig-подобные белки (например, TCR, FcR, KIR), происходящие из последовательностей шарнирных участков и других природных последовательностей других белков.

В некоторых вариантах реализации изобретения линкер представляет собой "домен-линкер", применяемый для соединения любых двух доменов, как изложено в данном документе. В то время как может быть применен любой подходящий линкер, в многочисленных вариантах реализации изобретения применяют, например, полимер глицина-серина, включающий, например, (GS) $_n$, (GS $_{GGGS}$) $_n$, (GGGS) $_n$ и (GGGS) $_n$, где n представляет собой целое число, по меньшей мере единицу (и в целом, как правило, от 3 до 4 до 5), а также любую пептидную последовательность, которая делает возможным рекомбинантное соединение двух областей, с достаточной длиной и гибкостью, что позволяют каждому домену сохранить свою биологическую функцию. В некоторых случаях и с уделением особого внимания "цепочечности", как указано ниже, могут использоваться заряженные линкерные домены, как используется в некоторых вариантах реализации scFv-линкеров.

В некоторых вариантах реализации изобретения, scFv-линкер представляет собой заряженный scFv-линкер, некоторое количество которых показано на фиг. 33. Соответственно настоящее изобретение дополнительно относится к заряженным scFv-линкерам, чтобы облегчить разделение в pI между первым и вторым мономерами. То есть путем включения заряженного scFv-линкера, как положительного, так и отрицательного (или обоих, в случае каркасов, которые используют scFvs на разных мономерах), это позволяет мономеру, содержащему заряженный линкер, изменять pI без внесения дополнительных изменений в Fc домены. Данные заряженные линкеры могут быть заменены на любые scFv, содержащие стандартные линкеры. Опять же, как будет понятно специалистам в данной области техники, заряженные scFv-линкеры применяются на правильной "цепи" или мономере в соответствии с желаемыми изменениями в pI. Например, как описано в данном документе, для получения гетеродимерного антитела в форме тройного F, рассчитывают исходный pI участка Fv для каждого из желаемых антигенсвязывающих доменов, и выбирают один для получения scFv, и выбирают в зависимости от pI или положительные, или отрицательные линкеры.

Заряженные домены-линкеры также могут использоваться для увеличения разделения мономеров по pI по изобретению, и таким образом те, которые включены на фиг. 33, могут быть применены в любом варианте реализации настоящего изобретения, где используется линкер.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела являются полноразмерными. "Полноразмерное антитело" в данном документе означает структуру, которая составляет природную биологическую форму антитела, включающую переменные и константные участки, включающие одну или более модификаций, как описано в данном документе, в частности в доменах Fc, что делают возможным или гетеродимеризационное формирование, или очистку гетеродимеров от гомодимеров. Полноразмерные антитела в целом, как правило, содержат домены Fab и Fc, и могут дополнительно содержать дополнительные антигенсвязывающие домены, такие как scFv, как это в целом проиллюстрировано на чертежах.

В одном варианте реализации изобретения, антитело представляет собой фрагмент антитела, поскольку оно содержит по меньшей мере один константный домен, который может быть сконструирован для получения гетеродимеров таким способом, как конструирование pI. Другие фрагменты антител, которые могут применяться, включают фрагменты, содержащие один или более CH1, CH2, CH3, шарнирных и CL-доменов по данному изобретению, которые подвергли конструированию pI. Например, Fc-гибриды представляют собой гибриды по Fc-участку (CH2 и CH3, необязательно с шарнирным участком), присоединенному к другому белку. Ряд Fc-гибридов известен в данной области техники и может быть усовершенствован добавлением гетеродимеризационных вариантов по данному изобретению. В данном случае, могут быть получены гибриды антител, содержащие CH1; CH1, CH2 и CH3; CH2; CH3;

CH2 и CH3; CH1 и CH3, любой из которых или все необязательно могут быть получены с шарнирным участком, используя любую комбинацию гетеродимеризационных вариантов, описанную в данном документе.

В частности, формы, изображенные на фиг. 1, представляют собой антитела, как правило, называемые "гетеродимерными антителами", а это означает, что белок имеет по меньшей мере две соответствующие Fc-последовательности, самособранные в гетеродимерный домен Fc.

Химерные и гуманизированные антитела.

В некоторых вариантах реализации изобретения, антитела могут быть смесью из разных видов, например химерного антитела и/или гуманизированного антитела. В целом, как "химерные антитела", так и "гуманизированные антитела" относятся к антителам, в которых комбинируются участки из более чем одного вида. Например, "химерные антитела" традиционно содержат вариабельный(е) участок(ки) из организма мыши (или, в некоторых случаях, крысы) и константный(е) участок(ки) из организма человека. "Гуманизированное антитело", как правило, относится к нечеловеческим антителам, которые имеют каркасные участки вариабельного домена, замененные на последовательности, обнаруженные в антителах человека. Как правило, в гуманизированном антителе целое антитело, за исключением CDR, кодируется полинуклеотидом человеческого происхождения или является идентичным такому антителу, за исключением внутренней части его CDR. CDR, некоторые из которых или все кодируются нуклеиновыми кислотами, происходящими из нечеловеческого организма, прививают на каркас бета-листа вариабельного участка антитела человека для создания антитела, специфичность которого определяется привитыми CDR. Создание таких антител описано, например, в WO 92/11018, Jones, 1986, Nature 321:522-525, Verhoeven et al., 1988, Science 239:1534-1536, все включены в полном объеме посредством ссылки. "Обратная мутация" выбранных остатков акцепторного каркаса на соответствующие донорские остатки часто требуется для восстановления аффинности, которая потеряна в начальной привитой конструкции (US 5530101; US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 6180370; US 5859205; US 5821337; US 6054297; US 6407213, все включены в полном объеме посредством ссылки). Гуманизированное антитело также оптимально будет содержать по меньшей мере часть константного участка иммуноглобулина, обычно из иммуноглобулина человека, и поэтому будет, как правило, содержать Fc-участок человека.

Гуманизированные антитела могут быть также получены с использованием мышей с генетически модифицированной иммунной системой. Роке и др., 2004, Biotechnol. Prog. 20: 639-654, включено в полном объеме посредством ссылки. Множество техник и способов гуманизации и реконструирования нечеловеческих антител хорошо известны в данной области техники (см. Tsurushita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA), и ссылки, цитируемые здесь, все включены в полном объеме посредством ссылки). Способы гуманизации включают, но не ограничиваются лишь этими: способы, описанные в Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-329; Verhoeven et al., 1988, Science, 239:1534-1536; Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci, USA 86:10029-33; He et al., 1998, J. Immunol. 160: 1029-1035; Carter et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:4285-9; Presta et al., 1997, Cancer Res. 57(20):4593-9; Gorman et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4181-4185; O'Connor et al., 1998, Protein Eng 11:321-8, все включены в полном объеме посредством ссылки. Гуманизация или другие способы снижения иммуногенности вариабельных участков нечеловеческих антител могут включать способы реконструирования, как описано, например, в Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973, включена в полном объеме посредством ссылки. В одном варианте реализации изобретения, первичное антитело было аффинно созревшим, как известно в данной области техники. Для гуманизации и аффинного созревания могут применяться способы, основанные на изменении структуры, например, как описано в USSN 11/004590. Для гуманизации и/или аффинного созревания вариабельных участков антител могут применяться способы, основанные на отборе, включающие, но не ограниченные ими, способы, описанные в Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611-22618; Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910-8915; Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10):753-759, все включены в полном объеме посредством ссылки. Другие способы гуманизации могут вовлекать прививание лишь частей CDR, включая, но не ограничиваясь лишь этими: способы, описанные в USSN 09/810510; Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084, все включены в полном объеме посредством ссылки.

IV. Гетеродимерные антитела.

Соответственно в некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к гетеродимерным антителам, что основано на применении двух различных вариантов Fc-доменов тяжелой цепи, которые будут самособираться с формированием гетеродимерных антител.

Настоящее изобретение относится к новым конструкциям для получения гетеродимерных антител, которые делают возможным связывание с более чем одним антигеном или лигандом, например делают возможным биспецифическое связывание. Конструкции гетеродимерных антител основаны на их способности самособорки двух Fc-доменов тяжелых цепей антител, например двух "мономеров", которые собираются в "димер". Гетеродимерные антитела получают путем изменения аминокислотной последовательности каждого мономера, как более подробно описано ниже. Так, настоящее изобретение в целом

направлено на создание гетеродимерных антител, которые могут совместно захватывать антигены несколькими путями, основанными на аминокислотных вариантах в константных участках, которые различаются на каждой цепи для облегчения гетеродимерного образования, и/или позволяют облегчить очистку гетеродимеров от гомодимеров.

Таким образом, в настоящем изобретении предложены биспецифические антитела. Существующая проблема в технологиях получения антител заключается в требовании получения "биспецифических" (и/или мультиспецифических) антител, которые связываются с двумя (или более) разными антигенами одновременно, как правило, позволяя, таким образом, разным антигенам сближаться и приводя к получению нового функционирования и новым видам терапии. Как правило, эти антитела получают посредством введения генов каждой тяжелой и легкой цепи в клетки-хозяева. В целом, как правило, это приводит к образованию требуемого гетеродимера (А-В), а также двух гомодимеров (А-А и В-В (не включая гетеродимерные ограничения легкой цепи)). Однако основное препятствие для образования биспецифических антител заключается в трудности очистки гетеродимерных антител от гомодимерных антител и/или смещения образования димеров в направлении преобладания гетеродимеров над гомодимерами.

Существует ряд механизмов, которые могут применяться для получения гетеродимеров по настоящему изобретению. В дополнение к этому, как ясно специалистам в данной области техники, эти механизмы могут комбинироваться для обеспечения высокой гетеродимеризации. Таким образом, аминокислотные варианты, которые приводят к получению гетеродимеров, упоминаются как "гетеродимеризационные варианты". Как описано ниже, гетеродимеризационные варианты могут включать в себя стерические варианты (например, "выпуклости и углубление" ("knobs and holes") или "ассиметричные" варианты, описанные ниже, и варианты "заряженные пары" ("charge pairs") описаны ниже), а также "pI-варианты", что делают возможной очистку гомодимеров от гетеродимеров. Как в целом описано в WO 2014/145806, включенном в данный документ посредством ссылки в полном объеме, и как, в частности, описано ниже для обсуждения "гетеродимеризационных вариантов", полезные способы для гетеродимеризации включают: "выпуклости и углубление" ("ВИБ" ("KIN")), иногда в данном документе "ассиметричные" варианты, (см. обсуждение в WO 2014/145806), "электростатическое ориентирование" или "заряженные пары", как описано в WO 2014/45806, pI-варианты, как описано в WO 2014/145806, и общие дополнительные Fc-варианты, как описано в WO 2014/145806 и ниже.

В настоящем изобретении существует несколько основных механизмов, которые приводят к облегчению очистки гетеродимерных антител; один основан на применении pI-вариантов, так что каждый мономер имеет отличающуюся pI, таким образом позволяя проводить изоэлектрическую очистку димерных белков А-А, А-В и В-В. В альтернативном варианте, некоторые формы каркасных структур, такие как "тройная F" форма, позволяют проводить разделение на основании размера. Как дополнительно отмечено ниже, также можно сделать "ассиметричным" образование гетеродимеров относительно гомодимеров. Таким образом, комбинация стерических гетеродимеризационных вариантов и pI-вариантов или вариантов заряженных пар находит конкретное применение в данном изобретении.

В целом, как правило, разновидности реализации изобретения для конкретного применения в настоящем изобретении основаны на наборах вариантов, которые включают в себя ассиметричные варианты, что стимулируют гетеродимеризационное формирование относительно гетеродимеризационного формирования в сочетании с вариантами pI, которые увеличивают разность pI между двумя мономерами.

Кроме того, как более подробно описано ниже, в зависимости от формы гетеродимерного антитела, pI-варианты могут быть таковыми что, или содержатся в константных и/или Fc доменах мономера, или в заряженных линкерах, или могут быть использованы линкеры-домены или scFv-линкеры. То есть каркасы, которые используют scFv, такие как форма "тройная F", могут содержать заряженные scFv-линкеры (или положительные, или отрицательные), которые дают дополнительное изменение pI для целей очистки.

Специалистам в данной области ясно, что некоторые тройные F-формы являются подходящими только с заряженными scFv-линкерами и без дополнительных корректировок pI, тем не менее, в данном изобретении также предложены pI-варианты, которые присутствуют на одном или обоих мономерах, и/или также заряженных доменах-линкерах. К тому же, дополнительное аминокислотное конструирование для предоставления альтернативных функциональных возможностей может также обеспечивать изменения pI, таких как варианты Fc, FcRn и КО.

В настоящем изобретении, в котором применяется pI в качестве механизма, что позволяет очищать гетеродимерные белки, могут вводиться аминокислотные варианты в один или оба мономерных полипептида; а именно pI одного из мономеров (названного в данном документе для простоты "мономер А") может быть сконструировано отдельно от мономера В, или может быть изменен заряд обоих мономеров А и В с увеличением pI мономера А и уменьшением pI мономера В. Как полнее описано ниже, изменить pI как одного, так и обоих мономеров можно путем удаления или добавления заряженного остатка (например, нейтральная аминокислота заменяется положительно или отрицательно заряженным аминокислотным остатком, например глицин на глутаминовую кислоту), изменения заряженного остатка с положительного или отрицательного на остаток с противоположным зарядом (аспарагиновая кислота на лизин) или изменения заряженного остатка на нейтральный остаток (например, потеря заряда; лизин на

серии). Ряд этих вариантов показан на чертежах.

Соответственно в этом варианте реализации настоящего изобретения предложено создание достаточного изменения pI по меньшей мере в одном из мономеров так, чтобы гетеродимеры можно было отделять от гомодимеров. Как ясно специалистам в данной области и как дополнительно обсуждается ниже, это можно осуществить применением "дикого типа" константного участка тяжелой цепи и вариантного участка, который был сконструирован как с увеличением, так и с уменьшением его pI (дт A-+B или дт A - -B), либо увеличением для одного участка или уменьшением для другого участка (A+ -B- или A-B+).

Таким образом, в целом, компонент некоторых вариантов реализации изобретения по настоящему изобретению представлен аминокислотными вариантами в константных участках антител, которые направлены на изменение изоэлектрической точки (pI) по меньшей мере одного, если не обоих, мономеров димерного белка для образования "pI-антител" введением аминокислотных замен ("pI-варианты" или "pI-замены") в один или оба мономера. Как показано в данном документе, отделение гетеродимеров от двух гомодимеров может осуществляться, если pI двух мономеров отличаются всего лишь на 0,1 единицу pH, все данные со значениями 0,2, 0,3, 0,4 и 0,5 или больше используются в настоящем изобретении.

Специалистам в данной области ясно, что количество pI-вариантов, включаемых в каждый или оба мономера для достижения надлежащего разделения, будет зависеть, в частности, от исходной pI компонентов, например в форме тройного F, исходного pI представляющих интерес scFv и Fab. Иными словами, для определения того, какой мономер следует конструировать или в каком "направлении" изменять (например, делать более положительным или более отрицательным), рассчитывают последовательности Fv двух антигенов-мишеней и на основе этого принимают решение. Как известно в данной области техники, разные Fv будут иметь разные исходные pI, которые используются в настоящем изобретении. В целом, как отмечается в данном документе, pI конструируют для получения общей разности pI каждого мономера по меньшей мере около 0,1 log с предпочтением от 0,2 до 0,5, как описано в данном документе.

Кроме того, как ясно специалистам в данной области техники и как описано в данном документе, в некоторых вариантах реализации изобретения, гетеродимеры могут быть отделены от гомодимеров на основе размера. Как показано, например, на фиг. 1, некоторые из форм позволяют разделять гетеродимеры и гомодимеры на основе размера.

В случае, когда для достижения гетеродимеризации применяются pI-варианты, предложен более модульный подход для разработки и очистки биспецифических белков, включая антитела, путем использования константного участка(ов) тяжелой цепи(ей). Таким образом, в некоторых вариантах реализации изобретения, гетеродимеризационные варианты (включая ассиметричные варианты и гетеродимеризационные варианты для очистки) не включают в вариабельные участки, так что должно конструироваться каждое отдельное антитело. В дополнение к этому, в некоторых вариантах реализации изобретения возможность иммуногенности, возникающая вследствие pI-вариантов, значительно снижается импортированием pI-вариантов из разных изотипов IgG, так что pI изменяется без возникновения значительной иммуногенности. Таким образом, дополнительная проблема, требующая разрешения, заключается в установлении константных доменов с низкой pI и с высоким содержанием последовательностей человека, например минимизацией или избеганием в любом конкретном положении остатков нечеловеческой последовательности.

Побочное преимущество, возможное при данном конструировании pI, также заключается в продлении периода полувыведения из сыворотки и увеличении связывания FcRn. Иными словами, как описано в USSN 13/194904 (включен в полном объеме посредством ссылки), снижение pI константных доменов антител (включая обнаруженные в антителах и Fc-гибридах) может привести к продлению удержания в сыворотке *in vivo*. Эти pI-варианты для увеличения периода полувыведения из сыворотки также облегчают введение изменений pI для очистки.

Кроме того, следует отметить, что варианты pI-варианты гетеродимеризационных вариантов дают дополнительное преимущество для аналитики и процесса контроля качества биспецифических антител, поскольку возможность или устранять, минимизировать и различать присутствие гомодимеров, является значительным преимуществом. Точно так же важна возможность надежно тестировать воспроизводимость продуцирования гетеродимерных антител.

Гетеродимеризационные варианты.

В настоящем изобретении предложены гетеродимерные белки, включая гетеродимерные антитела во множестве форм, которые используют гетеродимерные варианты, позволяющие формирование и/или очистку гетеродимеров от гомодимеров.

Существует несколько подходящих пар наборов ассиметричных вариантов гетеродимеризации. Эти варианты предложены в виде "пар" "наборов". То есть один набор пары помещают в первый мономер, а другой набор пары помещают во второй мономер. Следует отметить, что эти наборы не обязательно взаимодействуют как варианты "выпуклость и впакуость", с соответствием один-к-одному между остатком на одном мономере и остатком на другом; то есть эти пары наборов образуют интерфейс между двумя мономерами, что способствует образованию гетеродимера и препятствует образованию гомодимера, позволяя проценту гетеродимеров, которые самопроизвольно образуют в биологических условиях, превы-

шать 90%, нежели составлять ожидаемые 50% (25% гомодимер A/A:50% гетеродимер A/B:25% гомодимер B/B).

Стерические варианты.

В некоторых вариантах реализации изобретения образование гетеродимеров может облегчаться добавлением стерических вариантов. Иными словами, путем изменения аминокислот в каждой тяжелой цепи, разные тяжелые цепи с большей вероятностью ассоциируют с образованием гетеродимерной структуры, чем с образованием гомодимеров с одинаковыми аминокислотными Fc-последовательностями. Подходящие стерические варианты приведены на фиг. 29.

Один механизм, обычно называемый в данной области техники как "выпуклости и углубления", относится к аминокислотному конструированию, которое создает стерические факторы для благоприятствования гетеродимерному образованию, а также необязательно может использоваться для препятствования гомодимерному образованию; эти факторы иногда называются как "выпуклости и углубления", как описано в USSN 61/596846, Ridgway et al., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell et al., J. Mol. Biol. 1997 270:26; патент США № 8216805, все они включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Чертежи идентифицируют ряд пар "мономер A - мономер B", которые основаны на механизме "выпуклости и углубления". В дополнение к этому, как описано в Merchant et al., Biotech. 16:677 (1998), эти мутации "выпуклости и углубления" могут комбинироваться с дисульфидными связями для смещения образования в направлении гетеродимеризации.

Дополнительный механизм, который находит применение для получения гетеродимеров, иногда называется "электростатическое ориентирование", как описано в Gunasekaran et al., J. Biol. Chem. 285(25):19637 (2010), включенной в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Этот механизм иногда называется в данном документе "заряженные пары". В этом варианте реализации изобретения, электростатические взаимодействия применяются для смещения образования в сторону гетеродимеризации. Специалистам в данной области техники ясно, что эти взаимодействия могут влиять на pI и, таким образом, на очистку, и поэтому в некоторых случаях также могут считаться pI-вариантами. Но поскольку эти пары создавались для принудительной гетеродимеризации и не использовались как средства для очистки, то они классифицируются как "стерические варианты". Они включают, но не ограничиваются лишь этими: D221E/P228E/L368E спаренные с D221R/P228R/K409R (например, они являются "соответствующими наборами мономеров"), и C220E/P228E/368E спаренные с C220R/E224R/P228R/K409R.

Дополнительные варианты мономера A и мономера B могут комбинироваться с другими вариантами необязательно и независимо в любом количестве, такие как pI-варианты, отмеченные в данном документе, или другие стерические варианты, как показано на фиг. 37 заявки США 2012/0149876, чертеж и условные обозначения и SEQ ID NO которой включены в данный документ явным образом посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения, стерические варианты, описанные в данном документе, могут необязательно и независимо включаться с любым pI вариантом (или другими вариантами, такими как Fc-варианты, FcRp-варианты, и т.д.) в один или оба мономера, и могут быть независимо и необязательно включенными или исключенными из белков по изобретению.

Перечень подходящих ассиметричных вариантов может быть найден на фиг. 29, с фиг. 34, что иллюстрируют некоторые пары особенно полезных вариантов во многих вариантах реализации изобретения. Особо полезными во многих вариантах реализации изобретения являются пары наборов, включающие, но не ограниченные лишь этими: S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q. С точки зрения номенклатуры, пара "S364K/E357Q: L368D/K370S" означает, что один из мономеров имеет двойной вариант набора S364K/E357Q, а другой имеет двойной вариант набора L368D/K370S.

Варианты по pI (изоэлектрическая точка) для гетеродимеров.

В целом, как ясно специалистам в данной области техники, существует две общие категории pI-вариантов: те, которые увеличивают pI белка (основные изменения), и те, которые снижают pI белка (кислотные изменения). Как описано в данном документе, все комбинации этих вариантов могут быть произведены одним мономером, который может быть диким типом, или вариантом, который не проявляет значительно отличающуюся от дикого типа pI, и другим, который может быть более основным или более кислотным. В альтернативном варианте, изменяется каждый мономер, один - в сторону большей основности, а другой - в сторону большей кислотности.

Предпочтительные комбинации pI-вариантов показаны на фиг. 30. Как описано в данном документе и показано на чертежах, эти изменения показаны относительно IgG1, но таким образом могут изменяться все изотипы, а также изотипные гибриды. В случае, когда константный домен тяжелой цепи получен из IgG2-4, могут также использоваться замены R133E и R133Q.

Варианты легкой цепи гетеродимеров антител.

В случае антитела на основе гетеродимеров, например, когда по меньшей мере один из мономеров содержит легкую цепь в дополнение к домену тяжелой цепи, то в легкой цепи также могут быть созданы pI-варианты. Аминокислотные замены для снижения pI легкой цепи включают, но не ограничиваются

лишь этими: K126E, K126Q, K145E, K145Q, N152D, S156E, K169E, S202E, K207E и добавление пептида DEDE на с-конце легкой цепи. Изменения в этой категории, основанные на константной легкой цепи лямбда, включают одну или более замен R108Q, Q124E, K126Q, N138D, K145T и Q199E. В дополнение к этому также может быть осуществлено увеличение pI легких цепей.

Изотипические варианты.

В дополнение к этому, многие варианты реализации изобретения по данному изобретению основываются на "импортировании" pI-аминокислот в конкретные положения из одного изотипа IgG в другой, тем самым снижая или устраняя возможность нежелательной иммуногенности, вводимой в варианты. Некоторое их количество показано на фиг. 21 публикации США 2014/0370013, включенной в данный документ посредством ссылки. Иными словами, IgG1 является обычным изотипом для терапевтических антител по множеству причин, включающих высокую эффекторную функцию. Однако тяжелый константный участок IgG1 имеет более высокую pI, чем такой участок IgG2 (8,10 против 7,31). Вследствие введения остатков IgG2 в конкретные положения в скелете IgG1, pI результирующего мономера снижается (или увеличивается) и дополнительно демонстрирует более длительный период полувыведения из сыворотки. Например, IgG1 содержит глицин (pI 5,97) в положении 137, а IgG2 содержит глутаминовую кислоту (pI 3,22); импортирование глутаминовой кислоты будет влиять на pI результирующего белка. Как описано ниже, некоторое количество аминокислотных замен обычно требуется для значительного влияния на pI вариантного антитела. Однако следует отметить, что, как обсуждается ниже, для увеличенного периода полувыведения из сыворотки допустимы даже изменения в молекулах IgG2.

В других вариантах реализации изобретения создаются неизотипические аминокислотные замены как для снижения общего уровня заряда результирующего белка (например, путем изменения аминокислоты с большей pI на аминокислоту с меньшей pI), так и для обеспечения стабильности согласованиями в структуре и т.п., как подробнее описано ниже.

В дополнение к этому, с помощью конструирования pI как тяжелых, так и легких константных доменов могут быть обнаружены значительные изменения в каждом мономере гетеродимера. Как обсуждается в данном документе, изменение pI двух мономеров по меньшей мере на 0,5 может обеспечить разделение ионообменной хроматографией или изоэлектрическим фокусированием, или другими методами, чувствительными к изоэлектрической точке.

Расчет pI.

Значение pI каждого мономера может зависеть от pI константного домена вариантной тяжелой цепи и pI всего мономера, включающего константный домен вариантной тяжелой цепи и партнера слияния. Таким образом, в некоторых вариантах реализации изобретения изменение pI рассчитывается на основе константного домена вариантной тяжелой цепи с использованием схемы на фиг. 19 публикации США 2014/0370013. Как обсуждалось в данном документе, выбор подлежащего конструированию мономера в целом, как правило, определяется изначальным pI участков Fv и каркаса. В альтернативном варианте может сравниваться pI каждого мономера.

pI-варианты, которые также придают лучшее связывание FcRn *in vivo*.

В случае, когда pI-варианты снижают pI мономера, они могут обладать дополнительным преимуществом улучшенного удержания в сыворотке *in vivo*.

Хотя это явление еще изучается, считается, что Fc-участки обладают более длительными периодами полувыведения *in vivo*, Fc секвестрируется по причине связывания с FcRn при pH 6 в эндосоме (Ghetie and Ward, 1997 Immunol Today. 18(12): 592-598, включена в полном объеме посредством ссылки). Затем эндосомальный компартмент осуществляет рециклинг Fc на поверхность клетки. Как только компартмент открывается во внеклеточное пространство, более высокое pH ~7,4, индуцирует высвобождение Fc обратно в кровь. На мышцах Dall' Acqua et al. показали, что Fc-мутанты с увеличенным связыванием FcRn при pH 6 и pH 7,4 действительно имели пониженные концентрации в сыворотке и такой же период полувыведения, как и Fc дикого типа (Dall' Acqua et al. 2002, J. Immunol. 169:5171-5180, включена в полном объеме посредством ссылки). Предполагается, что увеличенная аффинность Fc для FcRn при pH 7,4 препятствует высвобождению Fc обратно в кровь. Следовательно, Fc-мутации, которые будут увеличивать период полувыведения Fc *in vivo*, теоретически будут увеличивать связывание FcRn при более низком pH, в то же время еще обеспечивая высвобождение Fc при более высокой pH. Аминокислота гистидин изменяет состояние заряда в диапазоне pH от 6,0 до 7,4. Следовательно, неудивительно, что остатки His обнаруживаются в комплексе Fc/FcRn в важных положениях.

Недавно предположили, что антитела с вариabельными участками, которые имеют более низкие изоэлектрические точки, также могут обладать более длительными периодами выведения из сыворотки (Igawa et al., 2010 PEDS. 23 (5):385-392, полностью включены в качестве ссылки). Тем не менее, механизм этого явления все еще остается малопонятным. Более того, вариabельные участки отличаются от антитела к антителу. Варианты с константными участками с пониженной pI и расширенным периодом полувыведения могли бы обеспечивать более модульный подход для улучшения фармакокинетических свойств антител, как описано в данном документе.

Дополнительные Fc-варианты для получения дополнительной функциональности.

В дополнение к аминокислотным pI-вариантам существует ряд полезных аминокислотных Fc-

модификаций, которые могут осуществляться по множеству причин, включая, но не ограничиваясь этим, изменение связывания с одним или более рецепторами FcγR, измененное связывание с рецепторами FcRn и т.п.

Соответственно белки по данному изобретению могут включать аминокислотные модификации, включающие гетеродимеризационные варианты, описанные в данном документе, которые включают pI-варианты и стерические варианты. Каждый набор вариантов может быть независимо и необязательно включен или исключен из какого-либо конкретного гетеродимерного белка.

Варианты FcγR.

Соответственно существует ряд полезных Fc-замен, которые могут осуществляться для изменения связывания с одним или более рецепторами FcγR. Могут быть полезными замены, которые приводят к увеличенному связыванию, а также к уменьшенному связыванию. Например, известно, что увеличенное связывание с FcγRIIIa, как правило, приводит к уменьшенной АЗКЦ (антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности; клеточноопосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают лизис клетки-мишени). Аналогичным образом, при некоторых обстоятельствах также может быть выгодным уменьшенное связывание с FcγRIIb (ингибирующий рецептор). Аминокислотные замены, которые находят применение в настоящем изобретении, включают перечисленные в USSN 11/124620 (особенно фиг. 41), 11/174287, 11/396495, 11/538406, все они явным образом включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки и исключительно для описанных здесь вариантов. Конкретные варианты, которые находят применение, включают, но не ограничиваются лишь этими: 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 243A, 243L, 264A, 264V и 299T.

В дополнение к этому, существуют дополнительные Fc-замены, которые находят применение для увеличения связывания с рецептором FcR и уменьшения периода полувыведения из сыворотки, как конкретно описано в USSN 12/341769, включенном в данный документ в полном объеме посредством ссылки, включая, но не ограничиваясь лишь этими: 434S, 434A, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I или V/434S, 436V/428L и 259I/308F/428L.

Абляционные Fc-варианты.

Аналогичным образом, другая категория функциональных вариантов представлена "FcγR-абляционными вариантами" или "Fc-нокаут" (FcHO или HO) вариантами. В этих вариантах реализации изобретения для некоторых терапевтических применений требуется снижать или исключать нормальное связывание Fc-домена с одним или всеми рецепторами Fcγ (например, FcγR1, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa и т.п.) для избегания дополнительных механизмов действия. То есть, например, во многих вариантах реализации данного изобретения, в частности, в применении биспецифических антител, которые связываются моновалентно с CD3, в целом, как правило, желательно аблировать связывание FcγRIIIa, чтобы устранить или значительно уменьшить АЗКЦ активность, причем один из доменов Fc содержит один или более абляционных вариантов рецептора Fcγ. Эти абляционные варианты изображены на фиг. 31, и каждый из них может быть независимо и необязательно включен или исключен, причем предпочтительные аспекты используют варианты абляции, выбранные из группы, состоящей из

G236R/L328R, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K,
E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,
E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G,
E2 33P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G и
E233P/L234V/L235A/G236del.

Следует отметить, что абляционные варианты, упоминаемые в данном документе, аблируют связывание FcγR, но в целом, как правило, не связывание FcRn.

Комбинация гетеродимерных вариантов и Fc-вариантов.

Специалистам в данной области техники ясно, что все перечисленные гетеродимеризационные варианты (включая ассиметричные и/или pI-варианты) могут необязательно и независимо комбинироваться любым путем, поскольку они могут сохранять свою "цепочечность" или "мономерную часть". В дополнение к этому, все эти варианты могут комбинироваться в любую гетеродимеризационную форму.

В случае pI-вариантов, в то время как варианты реализации изобретения находят конкретное применение, показанное на чертежах, могут быть получены другие комбинации, следуя основному правилу изменения разницы pI между двумя мономерами для облегчения очистки.

Кроме того, любой из гетеродимеризационных вариантов, ассиметричных и pI, также независимо и необязательно комбинируются с абляционными Fc-вариантами, Fc-вариантами, FcRn-вариантами, как в целом описано в настоящем документе.

Полезные формы по изобретению

Как ясно специалистам в данной области техники и обсуждается полнее ниже, гетеродимерные гибридные белки по настоящему изобретению принимают ряд многочисленных конфигураций как показано на фиг. 1. Некоторые чертежи иллюстрируют "одноконцевые" конфигурации, причем в наличии один

тип специфичности на одном "плече" молекулы и другой тип специфичности на другом "плече". Другие чертежи иллюстрируют "двоконцевые" конфигурации, причем в наличии по меньшей мере один тип специфичности в "верхней части" молекулы, и одна или больше различных специфичностей в "нижней части" молекулы. Таким образом, настоящее изобретение относится к новым иммуноглобулиновым композициям, которые совместно захватывают разные первый и второй антиген.

Как будет понятно специалистам в данной области техники, гетеродимерные формы по изобретению могут иметь различные валентности, а также быть биспецифичными. То есть гетеродимерные антитела по изобретению могут быть бивалентными и биспецифическими, причем CD3 связывается одним связывающим доменом и CD38 связывается вторым связывающим доменом. Гетеродимерные антитела также могут быть тривалентными и биспецифическими, причем CD38 связывается двумя связывающим доменом и CD3 связывается вторым связывающим доменом. Как указано в данном документе, предпочтительно, чтобы CD3 связывался только моновалентно, чтобы уменьшить возможные побочные эффекты.

В настоящем изобретении применяют анти-CD3 антиген-связывающие домены и анти-CD38 антиген-связывающие домены. Как будет понятно специалистам в данной области техники, может быть использована любая совокупность CDR анти-CD3, анти-CD3 переменных легких доменов и анти-CD3 переменных тяжелых доменов, Fabs и scFvs, как показано на любом чертеже (см., в частности, фиг. 2-7 и фиг. 68). Аналогично, может быть использован любой из антиген-связывающих доменов анти-CD38, будь то CDR анти-CD38, анти-CD38 переменных легких доменов и анти-CD38 переменных тяжелых доменов, Fabs и scFvs, как показано на любой из фиг. (см., фиг. 8, 9 и 10), необязательно и независимо скомбинированы в любую комбинацию.

Форма "бутылкооткрыватель".

Один гетеродимерный каркас, который находит конкретное применение в настоящем изобретении, представляет собой форму "тройная F", или "бутылкооткрыватель", как показано на фиг. 1A и 1B. В этом варианте реализации данного изобретения одна тяжелая цепь антитела содержит одну цепь Fv ("scFv", как определено ниже), а другая тяжелая цепь, представляет собой "обычную" FAb-форму, содержащую переменную тяжелую и легкую цепи. Эта структура в данном документе иногда называется формой "тройная F" (scFv-FAb-Fc) или формой "бутылкооткрыватель" из-за некоторого визуального сходства с бутылкооткрывателем (см. фиг. 1). Две цепи являются сведенными вместе благодаря применению аминокислотных вариантов в константных участках (например, Fc-домене, CH1 домене и/или шарнирном домене), что облегчает образование гетеродимерных антител, как полнее описано ниже.

Существует несколько различных преимуществ данной формы "тройная F". Как известно в данной области техники, аналоги антител, основанные на двух scFv-конструкциях, часто имеют сложности со стабильностью и агрегацией, которые могут быть уменьшены в настоящем изобретении путем добавления "обычного" подбора пар тяжелых и легких цепей. В дополнение к этому, в противоположность формам, которые основаны на двух тяжелых цепях и двух легких цепях, здесь не возникает проблемы с неправильным спариванием тяжелых и легких цепей (например, тяжелая 1 спаривается с легкой 2 и т.д.).

Многие из вариантов реализации изобретения, описанные в данном документе, полагаются в целом, как правило, на форму "бутылкооткрыватель", что содержит первый мономер, содержащий scFv, содержащий переменный тяжелый и переменный легкий домен, ковалентно прикрепленный с применением линкера scFv (заряженный, во многих случаях), причем scFv ковалентно присоединен к N-концу первого домена Fc, как правило, через домен-линкер (который, как указано в данном документе, может быть или незаряженным или заряженным). Второй мономер формы "бутылкооткрыватель" является тяжелой цепью, и композиция дополнительно содержит легкую цепь.

В целом, как правило, во многих предпочтительных вариантах реализации изобретения scFv является доменом, который связывается с CD3, с Fab тяжелых и легких цепей, связывающийся с CD38. В дополнение к этому, домены Fc по настоящему изобретению в целом, как правило, содержат ассиметричные варианты (например, набор аминокислотных замен, как показано на фиг. 29 и 34, в частности, особенно полезны ассиметричные варианты, выбранные из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q), необязательно абляционные варианты, а также тяжелую цепь, содержащую pI варианты.

В настоящем изобретении предложены формы по типу "бутылкооткрывателя", где последовательности анти-CD3 scFv являются такими, как показанные на фиг. 2-7 и фиг. 68.

В настоящем изобретении предложены формы по типу "бутылкооткрывателя", причем последовательности анти-CD38 являются такими, как показанные на фиг. 8-10.

Форма mAb-Fv.

Один гетеродимерный каркас, который находит конкретное применение в настоящем изобретении, представляет собой форму mAb-Fv, показанную на фиг. 1. В этом варианте реализации данного изобретения форма основана на применении C-концевого присоединения "добавочного" переменного тяжелого домена к одному мономеру, и C-концевого присоединения "добавочного" переменного легкого домена к другому мономеру, таким образом формируя третий антиген-связывающий домен, причем части

Fab двух мономеров связывают CD38 и "добавочный" домен scFv связывает CD3.

В данном варианте реализации изобретения первый мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый переменный тяжелый домен и первый константный тяжелый домен, содержащий первый домен Fc, с первым переменным легким доменом, ковалентно присоединенным к С-концу первого домена Fc с применением домена-линкера. Второй мономер содержит второй переменный тяжелый домен второго константного тяжелого домена, содержащего второй домен Fc, и третий переменный тяжелый домен, ковалентно присоединенный к С-концу второго домена Fc с применением домена-линкера. Два С-терминальных прикрепленных переменных домена формируют scFv, который связывает CD3. Данный вариант реализации изобретения дополнительно использует общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен, которая объединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают CD38. Что же касается многих вариантов реализации изобретения в данном документе, эти конструкции включают в себя ассиметричные варианты, pI-варианты, абляционные варианты, дополнительные варианты Fc, и т.д., как желаемо и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-Fv, в которых последовательности анти-CD3 scFv представляют собой те, что показаны на фиг. 2-7.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-Fv, причем последовательности анти-CD38 представляют собой те, что показаны на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-Fv, содержащие абляционные варианты, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-Fv, содержащие ассиметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

mAb-scFv.

Один гетеродимерный каркас, который находит конкретное применение в настоящем изобретении, представляет собой форму mAb-Fv, показанную на фиг. 1. В этом варианте реализации данного изобретения, форма основана на применении С-концевого присоединения scFv к одному мономеру, таким образом формируя третий антиген-связывающий домен, причем части Fab двух мономеров связывают CD38 и "добавочный" домен scFv связывает CD3. Таким образом, первый мономер содержит первую тяжелую цепь (содержащую переменный тяжелый домен и константный домен) с С-терминально ковалентно присоединенным scFv, содержащим переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv. Данный вариант реализации изобретения дополнительно использует общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен, которая объединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают CD38. Что же касается многих вариантов реализации изобретения в данном документе, эти конструкции включают в себя ассиметричные варианты, pI-варианты, абляционные варианты, дополнительные варианты Fc, и т.д., как желаемо и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-scFv, в которых последовательности анти-CD3 scFv представляют собой те, что показаны на фиг. 2-7.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-scFv, причем последовательности анти-CD38 представляют собой те, что показаны на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-scFv, содержащие абляционные варианты, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предложены формы mAb-scFv, содержащие ассиметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Central scFv.

Один гетеродимерный каркас, который находит конкретное применение в настоящем изобретении, представляет собой форму Central-scFv, показанную на фиг. 1. В этом варианте реализации данного изобретения, форма основана на применении вставленного домена scFv, таким образом формируя третий антиген-связывающий домен, причем части Fab двух мономеров связывают CD38 и "добавочный" домен scFv связывает CD3. Домен scFv вставляют между доменом Fc и участком CH1-Fv одного из мономеров, таким образом получая третий антиген-связывающий домен.

В этом варианте реализации данного изобретения первый мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый переменный тяжелый домен, домен CH1 и Fc, с scFv, содержащим переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv. scFv ковалентно присоединен между С-концом домена CH1 тяжелого константного домена и N-концом первого домена Fc с использованием доменов-линкеров. Данный вариант реализации изобретения дополнительно использует общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен, которая объединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают CD38. Что же касается многих вариантов реализации изобретения в данном документе, эти конструкции включают в себя ассиметричные варианты, pI-варианты, абляционные варианты, дополнительные варианты Fc, и т.д., как желаемо и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, в которых последовательности анти-

CD3 scFv представляют собой те, что показаны на фиг. 2-7.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, причем последовательности анти-CD38 представляют собой те, что показаны на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, содержащие абляционные варианты, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, содержащие ассиметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Форма Central-Fv.

Один гетеродимерный каркас, который находит конкретное применение в настоящем изобретении, представляет собой форму Central-Fv, показанную на фиг. 1. В этом варианте реализации данного изобретения, форма основана на применении вставленного домена scFv, таким образом формируя третий антиген-связывающий домен, причем части Fab двух мономеров связывают CD38 и "добавочный" домен scFv связывает CD3. Домен scFv вставляют между доменом Fc и участком CH1-Fv одного из мономеров, таким образом получая третий антиген-связывающий домен, причем каждый мономер содержит компонент scFv (например, один мономер содержит переменный тяжелый домен и другой переменный легкий домен).

В этом варианте реализации данного изобретения, один мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый переменный тяжелый домен, домен CH1 и домен Fc, и дополнительный переменный легкий домен. Легкий домен ковалентно присоединен между С-концом домена CH1 тяжелого константного домена и N-концом первого домена Fc с использованием доменов-линкеров. Другой мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый переменный тяжелый домен, домен CH1 и домен Fc, и дополнительный переменный тяжелый домен. Легкий домен ковалентно присоединен между С-концом домена CH1 тяжелого константного домена и N-концом первого домена Fc с использованием доменов-линкеров.

Данный вариант реализации изобретения дополнительно использует общую легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен, которая объединяется с тяжелыми цепями с образованием двух идентичных Fab, которые связывают CD38. Что же касается многих вариантов реализации изобретения в данном документе, эти конструкции включают в себя ассиметричные варианты, pI-варианты, абляционные варианты, дополнительные варианты Fc, и т.д., как желаемо и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, в которых последовательности анти-CD3 scFv представляют собой те, что показаны на фиг. 2-7.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, причем последовательности анти-CD38 представляют собой те, что показаны на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, содержащие абляционные варианты, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предложены формы Central-scFv, содержащие ассиметричные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Одноплечевой central-scFv.

Один гетеродимерный каркас, который находит конкретное применение в настоящем изобретении, представляет собой одноплечевую форму central-scFv, показанную на фиг. 1. В этом варианте реализации данного изобретения, один мономер содержит только домен Fc, в то время как другой мономер использует вставленный домен scFv, таким образом, формируя второй антигенсвязывающий домен. В данной форме или часть Fab связывает CD38, а scFv связывает CD3, или наоборот. Домен scFv вставляют между доменом Fc и участком CH1-Fv одного из мономеров.

В этом варианте реализации данного изобретения, первый мономер содержит первую тяжелую цепь, содержащую первый переменный тяжелый домен, домен CH1 и Fc, с scFv, содержащим переменный легкий домен scFv, линкер scFv и переменный тяжелый домен scFv. scFv ковалентно присоединен между С-концом домена CH1 тяжелого константного домена и N-концом первого домена Fc с использованием доменов-линкеров. Второй мономер содержит домен Fc. Данный вариант реализации изобретения дополнительно использует легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен, которая объединяется с тяжелой цепью с образованием Fab. Что же касается многих вариантов реализации изобретения в данном документе, эти конструкции включают в себя ассиметричные варианты, pI-варианты, абляционные варианты, дополнительные варианты Fc, и т.д., как желаемо и описано в данном документе.

В настоящем изобретении предложены одноплечевые формы Central-scFv, в которых последовательности анти-CD3 scFv представляют собой те, что показаны на фиг. 2-7.

В настоящем изобретении предложены одноплечевые формы Central-scFv, причем последовательности анти-CD38 представляют собой те, что показаны на фиг. 8-10.

В настоящем изобретении предложены одноплечевые формы Central-scFv, содержащие абляционные варианты, как показано на фиг. 31.

В настоящем изобретении предложены одноплечевые формы Cenral-scFv, содержащие ассиметрич-

ные варианты, как показано на фиг. 29 и 34.

Формы с двойным scFv.

В настоящем изобретении также предложены формы с двойным scFv, которые известны в данной области техники и показаны на фиг. 1. В настоящем изобретении предложены формы с двойным scFv, в которых последовательности анти-CD3 scFv представляют собой те, что показаны на фиг. 2-7.

В настоящем изобретении предложены формы с двойным scFv, причем последовательности анти-CD38 представляют собой те, что показаны на фиг. 8-10.

Нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению.

Изобретение дополнительно относится к композициям нуклеиновых кислот, кодирующим биспецифические антитела по изобретению. Как будет понятно специалистам в данной области техники, композиции нуклеиновых кислот будут зависеть от формы и каркаса гетеродимерного белка. Так, например, когда форма требует три аминокислотные последовательности, такие, как для формы "тройная F" (например, первый аминокислотный мономер, содержащий домен Fc и scFv, второй аминокислотный мономер, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь), три нуклеотидных последовательности могут быть включены в один или более экспрессионных векторов для экспрессии. Аналогичным образом, некоторые формы (например, формы с двойным scFv, такие как те, что описаны на фиг. 1), требуют лишь двух нуклеиновых кислот; опять же, они могут быть помещены в один или два экспрессирующих вектора.

Как известно специалистам в данной области техники, нуклеиновые кислоты, кодирующие компоненты по изобретению могут быть вставлены в векторы экспрессии, как известно в данной области техники, и в зависимости от клетки-хозяева, применяются для получения гетеродимерных антител по изобретению. В целом, как правило, нуклеиновые кислоты, функционально связаны с любым количеством регуляторных элементов (промоторы, ориджин репликации, селективные маркеры, сайты связывания рибосом, индукторы и т.д.). Векторы экспрессии могут быть экстрахромосомными или интегрирующими векторами.

Нуклеиновыми кислотами и/или векторами экспрессии по данному изобретению, затем трансформируют любое число различных типов клеток-хозяев, которые хорошо известны в данной области техники, в том числе млекопитающих, бактерий, дрожжей, насекомых и/или грибковых клеток, с клетками млекопитающих (например, клетки CHO), находящие применение во многих вариантах реализации изобретения.

В некоторых вариантах реализации изобретения, нуклеиновые кислоты, кодирующие каждый мономер и необязательная нуклеиновая кислота, кодирующая легкую цепь, как это применимо в зависимости от формы, каждая содержится в одном векторе экспрессии, в целом, как правило, под контролем различных или одинаковых промоторов. В вариантах реализации изобретения конкретного применения в настоящем изобретении, каждая из этих двух или трех нуклеиновых кислот содержится в разном векторе экспрессии. Как показано в данном документе и 62/025,931, включенном в данный документ посредством ссылки, различные соотношения вектора(ов) могут быть применены для направления формирования гетеродимеров. То есть, как ни удивительно, в то время как белки содержат первый мономер:второй мономер:легкие цепи (в случае многих из вариантов реализации изобретения в данном документе, что имеют три полипептида, составляющие гетеродимерное антитело) в соотношении 1:1:2, эти соотношения не являются соотношениями, которые дают лучшие результаты; смотрите фиг. 65.

Гетеродимерные антитела по изобретению получают путем культивирования клеток-хозяев, содержащих вектор(ы) экспрессии, как хорошо известно в данной области техники. После получения, выполняют традиционные стадии очистки антитела, включающие стадию очистки ионообменной хроматографией. Как обсуждается в данном документе, изменение pI двух мономеров по меньшей мере на 0,5 может обеспечить разделение ионообменной хроматографией или изоэлектрическим фокусированием, или другими методами, чувствительными к изоэлектрической точке. То есть, включение pI-замен, которые изменяют изоэлектрическую точку (pI) каждого мономера позволяют сделать так, что каждый мономер имеет различный pI и каждый гетеродимер также имеет различный pI, таким образом облегчая изоэлектрическую очистку гетеродимира с формой "тройная F" (например, применяя анионо-обменные колонки, катионо-обменные колонки). Данные замены также помогают при определении и мониторинге любых контаминирующих двойных scFv-Fc и mAb-гомомеров после очистки (например, в гелях ИЭФ, в гелях кИЭФ, и аналитических ИО-колонках).

Лечение.

После получения, композиции по настоящему изобретению находят применение в ряде прикладных областей. CD38 не регулируется при многих гемопозитических злокачественных новообразованиях и в клеточных линиях, происходящих из различных гемопозитических злокачественных новообразований, включающих неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Беркитта (BL), множественную миелому (MM), В-клеточную хроническую лимфоцитарную лейкемию (B-CLL), В- и Т-клеточную острую лимфоцитарную лейкемию (ALL), Т-клеточную лимфому (TCL), острую миелоидную лейкемию (AML), волосатоклеточную лейкемию (HCL), лимфому Ходжкина (HL), хроническую лимфоцитарную лейкемию (CLL) и хроническую миелоидную лейкемию (CML).

Соответственно гетеродимерные композиции по настоящему изобретению находят применение в

лечении этих видов рака.

Композиции антител для введения *in vivo*.

Лекарственные формы антител, применяемые в соответствии с настоящим изобретением, получают с целью хранения путем смешивания антитела, обладающего требуемой степенью чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]), в форме лиофилизированных лекарственных форм или водных растворов. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксическими для реципиентов в применяемых дозировках и концентрациях и включают буферные вещества, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включающие аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензилламмония хлорид; гексаметония хлорид; бензалкония хлорид, бензэтония хлорид; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехин; резорцин; циклогексано-3-пентанол и м-крезол); полипептиды с низкой молекулярной массой (менее чем около 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включающие глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, Zn-белковые комплексы) и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

Лекарственная форма, описанная в данном документе, также может содержать более одного активного соединения, требуемого при конкретном подлежащем лечению показании, предпочтительно с дополняющими видами активности, которые не оказывают негативного влияния друг на друга. Например, может потребоваться наделить антитела другими видами специфичности. В альтернативном варианте или в дополнение, композиция может содержать цитотоксический агент, цитокин, ингибирующий рост агент и/или малую молекулу-антагонист. Такие молекулы надлежащим образом присутствуют в комбинации в количествах, которые эффективны для предполагаемого назначения.

Активные ингредиенты также можно заключить в микрокапсулы, полученные, например, с помощью методик коацервации или межфазовой полимеризации, например микрокапсулы из гидроксиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсулы полиметилметакрилата соответственно, в коллоидные системы доставки лекарственных веществ (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в макроэмульсии. Такие методики описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Лекарственные формы, применяемые для введения *in vivo*, должны быть стерильными или практически стерильными. Это легко осуществить путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны.

Могут быть приготовлены препараты с замедленным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, причем матрицы находятся в форме формованных изделий, например пленок или микрокапсул. Примеры матриц с замедленным высвобождением включают полиэфиры, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат) или поли(виниловый спирт)), полилактиды (патент США 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамат, неразлагаемый этиленвинилацетат, разлагаемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT™ (инъектируемые микросферы, состоящие из сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты и ацетата лейпролида) и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту. В то время как полимеры, такие как этиленвинилацетат и молочная кислота-гликолевая кислота, обеспечивают возможность высвобождения молекул дольше 100 суток, определенные гидрогели высвобождают белки в течение более коротких периодов времени.

Если инкапсулированные антитела остаются в организме в течение длительного времени, то они могут денатурировать или агрегировать в результате воздействия влаги при 37°C, что приводит к потере биологической активности и возможным изменениям иммуногенности. Для стабилизации могут быть разработаны рациональные стратегии, зависящие от задействованного механизма. Например, если обнаружено, что механизм агрегации вызывает образование межмолекулярной связи S-S посредством тиодисульфидного обмена, то стабилизация может достигаться модификацией сульфгидрильных остатков, лиофилизацией из кислотных растворов, регулированием содержания влаги, использованием подходящих добавок и разработкой специальных композиций с полимерными матрицами.

Способы введения.

Антитела и химиотерапевтические агенты по данному изобретению вводятся субъекту в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюсной или непрерывной инфузии в течение некоторого периода времени, внутримышечным, внутрибрюшинным, внутричерепнобрюшным, подкожным, интраартикулярным, внутрисуставным, интратекальным, пероральным, мест-

ным или ингаляционным путями. Предпочтительным является внутривенное или подкожное введение.

Способы лечения.

В способах по данному изобретению используется терапия для обеспечения положительного терапевтического ответа применительно к заболеванию или патологическому состоянию. "Положительный терапевтический ответ" предназначен для улучшения течения заболевания или состояния и/или улучшения симптомов, связанных с заболеванием или состоянием. Например, положительный терапевтический ответ может относиться к одному или более из следующих видов облегчения заболевания: (1) уменьшение количества неопластических клеток; (2) увеличение гибели неопластических клеток; (3) ингибирование выживаемости неопластических клеток; (5) ингибирование (т.е. до некоторой степени замедление, предпочтительно остановка) роста опухоли; (6) увеличенный коэффициент выживаемости пациентов и (7) некоторое облегчение одного или более симптомов, связанных с данным заболеванием или патологическим состоянием.

Положительные терапевтические ответы при любом данном заболевании или патологическом состоянии могут определяться по стандартизированному критерию ответа, специфическому для данного заболевания или патологического состояния. Ответ опухоли может оцениваться по изменениям морфологии опухоли (т.е. общей опухолевой нагрузки, размеру опухолей и т. п.) с использованием методик скрининга, таких как сканирование магнитно-резонансной томографией (МРТ), рентгено-радиографической визуализацией, компьютерным томографическим (КТ) сканированием, сканированием костей скелета, эндоскопией и отбором опухолевых биоптатов, включая аспирацию костного мозга (АКМ) и подсчет опухолевых клеток в кровотоке.

В дополнение к этим положительным терапевтическим ответам субъект, проходящий терапию, может ощущать благоприятный эффект улучшения симптомов, связанных с данным заболеванием.

Облегчение заболевания может характеризоваться как полный ответ. Под "полным ответом" подразумевается отсутствие клинически выявляемого заболевания с нормализацией результатов любых проведенных ранее радиографических исследований на выявление аномалий костного мозга и спинномозговой жидкости (СМЖ) или, в случае миеломы, аномального моноклонального белка.

Такой ответ может сохраняться в течение по меньшей мере от 4 до 8 недель, или иногда от 6 до 8 недель, после лечения в соответствии со способами по данному изобретению. В альтернативном варианте облегчение заболевания может быть отнесено к категории, представляющей собой частичный ответ. Под "частичным ответом" подразумевается по меньшей мере около 50% уменьшение всей измеряемой опухолевой нагрузки (т.е. количество злокачественных клеток, присутствующих у субъекта, или измеряемого объема опухолевых масс или количества аномального моноклонального белка) при отсутствии новых очагов, который может сохраняться в течение от 4 до 8 недель или от 6 до 8 недель.

Лечение в соответствии с настоящим изобретением включает "терапевтически эффективное количество" используемых лекарственных средств. "Терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого терапевтического результата.

Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол и вес индивида, а также способности лекарственных средств вызывать у индивида требуемый ответ. Терапевтически эффективное количество также является таким, при котором терапевтически благоприятное воздействие превосходит любое токсическое или пагубное воздействие антитела или части антитела.

"Терапевтически эффективное количество" для противоопухолевой терапии также может измеряться по его способности стабилизировать прогрессирование заболевания. Способность соединения ингибировать рак может оцениваться в системе животной модели, прогнозирующей эффективность при лечении опухолей человека.

В альтернативном варианте это свойство композиции может оцениваться путем изучения способности соединения ингибировать рост клеток или индуцировать апоптоз анализами *in vitro*, известными квалифицированному практику. Терапевтически эффективное количество терапевтического соединения может уменьшать размер опухоли или иным образом облегчать симптомы у субъекта. Любой средний специалист в данной области техники смог бы определить такие количества на основании таких факторов, как рост субъекта, тяжесть симптомов у субъекта, и конкретной композиции или выбранного пути введения.

Режимы дозирования корректируются для обеспечения оптимального требуемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, может вводиться однократная болюсная доза, несколько отдельных доз могут вводиться в течение периода времени или доза может быть пропорционально уменьшена или увеличена, как того требует терапевтическая ситуация. Для облегчения введения и однородности дозировки могут составляться парентеральные композиции в одноразовой дозированной форме. Одноразовая дозированная форма в данном документе относится к физически дискретным единицам, пригодным в качестве однократных доз для подлежащих лечению субъектов; каждая единица содержит предварительно определенное количество активного соединения, рассчитанное для получения требуемого терапевтического действия, в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем.

Описание одноразовых дозированных форм по настоящему изобретению обусловлено и напрямую зависит от: (а) уникальных свойств активного соединения и конкретного достигаемого терапевтического воздействия и (b) ограничений, существующих в области составления рецептур такого активного соединения для лечения у индивидов чувствительности.

Эффективные дозировки и режимы дозирования для биспецифических антител, применяемых в настоящем изобретении, зависят от подлежащего лечению заболевания или патологического состояния и могут определяться специалистами в данной области техники.

Типичный неограничивающий диапазон терапевтически эффективного количества биспецифического антитела, применяемого в настоящем изобретении, составляет около 0,1-100 мг/кг, такой как около 0,1-50 мг/кг, например около 0,1-20 мг/кг, как около 0,1-10 мг/кг, например около 0,5, такой как около 0,3, около 1 или около 3 мг/кг. В другом варианте реализации изобретения, антитело вводится в дозе 1 мг/кг или больше, такой как доза от 1 до 20 мг/кг, например в дозе от 5 до 20 мг/кг, например в дозе 8 мг/кг.

Медицинский специалист, обладающий обычными навыками в данной области техники, может легко определить и назначить эффективное количество требуемой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начать с доз используемого в фармацевтической композиции лекарственного средства на более низких уровнях, чем требуется для достижения требуемого терапевтического воздействия, и постепенно увеличивать дозировку до достижения требуемого воздействия.

В одном варианте реализации изобретения, биспецифическое антитело вводят путем инфузии в еженедельной дозировке от 10 до 500 мг/кг, например от 200 до 400 мг/кг. Такое введение может быть повторено, например, от 1 до 8 раз, например от 3 до 5 раз. Введение может проводиться непрерывной инфузией в течение периода времени от 2 до 24 ч, такого как от 2 до 12 ч.

В одном варианте реализации изобретения, биспецифическое антитело вводится путем медленной непрерывной инфузии в течение длительного периода времени, например более 24 ч, если это необходимо для снижения побочных эффектов, включающих токсичность.

В одном варианте реализации изобретения биспецифическое антитело вводится в еженедельной дозировке от 250 до 2000 мг, такой как, например, 300, 500, 700, 1000, 1500 или 2000 мг, вплоть до 8 раз, например, от 4 до 6 раз. Введение может проводиться непрерывной инфузией в течение периода времени от 2 до 24 ч, такого как от 2 до 12 ч. Такие режимы могут повторяться один или более раз, при необходимости, например, через 6 или 12 месяцев. Дозировка может определяться или корректироваться при помощи измерения количества соединения по настоящему изобретению в крови при введении, например, отбором биологического образца и использованием анти-идиотипических антител, которые таргетируют антигенсвязывающий участок биспецифического антитела.

В дополнительном варианте реализации изобретения биспецифическое антитело вводится раз в неделю в течение от 2 до 12 недель, например от 3 до 10 недель, например от 4 до 8 недель.

В одном варианте реализации изобретения, биспецифическое антитело вводится поддерживающей терапией, такой как, например, раз в неделю в течение периода 6 месяцев или более.

В одном варианте реализации изобретения, биспецифическое антитело вводится в режиме, включающем одну инфузию биспецифического антитела с последующей инфузией биспецифического антитела, конъюгированного с радиоизотопом. Режим может повторяться, например, через 7-9 суток.

В качестве неограничивающих примеров лечение в соответствии с настоящим изобретением может предоставляться в виде ежедневной дозировки антитела в количестве около 0,1-100 мг/кг, например 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мкг/кг в сутки, по меньшей мере в один из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 суток, или, в альтернативном варианте, по меньшей мере раз в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 недель после начала лечения, или в любой их комбинации с использованием однократной или раздельных доз каждые 24, 12, 8, 6, 4 или 2 ч, или в любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации изобретения молекула биспецифического антитела применяется в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, например химиотерапевтическим агентом. Неограничивающие примеры повреждающих ДНК химиотерапевтических агентов включают ингибиторы топоизомеразы I (например, иринотекан, топотекан, камптотecin и аналоги их метаболитов, и доксорубин); ингибиторы топоизомеразы II (например, этопозид, тенипозид и даунорубин); алкилирующие агенты (например, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, тиотепа, ифосфамид, кармустин, ломустин, семустин, стрептозоцин, декарбазин, метотрексат, митомицин C и циклофосфамид); интеркаляторы ДНК (например, цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин); интеркаляторы ДНК и генераторы свободных радикалов, такие как блеомицин; и нуклеозидные миметики (например, 5-фторурацил, капецитабин, гемцитабин, флударабин, цитарабин, меркаптопурин, тиогуанин, пентостатин и гидроксимочевина).

Химиотерапевтические агенты, которые разрушают репликацию клеток, включают паклитаксел, доцетаксел и родственные аналоги; винкристин, винблатин и родственные аналоги; талидомид, леналидомид и родственные аналоги (например, CC-5013 и CC-4047); ингибиторы протеинтирозинкиназы (на-

пример, иматиниба мезилат и гефитиниб); ингибиторы протеасомы (например, бортезомиб); ингибиторы NF-κB, включающие ингибиторы киназы IκB; антитела, которые связываются со сверхэкспрессируемыми при раковых заболеваниях белками и тем самым снижают репликацию клеток (например, трастузумаб, ритуксимаб, цетуксимаб и бевацизумаб); и другие ингибиторы белков или ферментов, известных как находящиеся на повышенном уровне, сверхэкспрессированные или активированные при раковых заболеваниях, ингибирование которых снижает репликацию клеток.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела по данному изобретению могут применяться до, одновременно или после лечения Velcade® (бортезомибом).

Все публикации, процитированные в данном документе, явным образом включены в полном объеме посредством ссылки.

Принимая во внимание то, что конкретные варианты реализации изобретения были описаны выше с целью иллюстрации, специалистам в данной области техники ясно, что могут быть осуществлены многочисленные изменения деталей без выхода за рамки объема данного изобретения, как описано в приложенной формуле изобретения.

Примеры

Примеры ниже представлены для иллюстрации настоящего изобретения. Эти примеры не подразумевают ограничение настоящего изобретения до любого конкретного применения или методики использования. Для всех положений констатного участка, обсуждаемых в настоящем изобретении, нумерация приведена в соответствии с индексом EU, как по Кабату (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, включена в полном объеме посредством ссылки). Специалистам в области техники, относящейся к антителам, ясно, что это правило состоит из непоследовательной нумерации специфических участков иммуноглобулиновой последовательности, дающей возможность унифицировать ссылки на консервативные положения в семействах иммуноглобулинов. Соответственно положения в любом данном иммуноглобулине, определенные индексом EU, не обязательно будут соответствовать последовательной последовательности.

Общие и конкретные научные методы изложены в публикациях США 2015/0307629, 2014/0288275 и WO 2014/145806, все из которых специально включены посредством ссылки во всей их полноте и, в частности, для раскрытия методов, изложенных в них.

Примеры.

Пример 1. Альтернативные формы.

Получение Fab-scFv-Fc.

Молекулы ДНК, кодирующие три цепи, необходимые для экспрессии Fab-scFv-Fc - Fab-Fc, scFv-Fc, и LC, были получены путем генного синтеза (Blue Heron Biotechnology, Bothell, штат Вашингтон), и были субклонированы в вектор экспрессии pTT5 с применением стандартных методов молекулярной биологии. Замены были введены с применением или сайт-направленного мутагенеза (QuikChange, Stratagene, Cedar Creek, штат Техас), или дополнительного генного синтеза и субклонирования. ДНК трансфицировали в клетки HEK293E для экспрессии, и полученные белки очищали от надосадочной жидкости с применением аффинной хроматографии с белком А (GE Healthcare) и катион-обменной хроматографии (GE Healthcare). Аминокислотные последовательности для биспецифических антител Fab-scFv-Fc приведены на фиг. 3.

Определения аффинности с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

Эксперименты по поверхностному плазмонному резонансу связывания были проведены с применением инструмента Biacore 3000 (данные не показаны). Даже после замещения аминокислоты (аминокислот) для изменения аффинности, варибельный участок анти-CD3 остается перекрестно-реактивным с CD3 яванского макака.

Связывание с клеточной поверхностью.

Связывание Fab-scFv-Fcs с CD3 измеряли на Т-клетках с помощью обнаружения вторичным антителом.

Перенаправленная цитотоксичность Т-клеток.

Анти-CD38 x анти-CD3 Fab-scFv-Fc биспецифические антитела были охарактеризованы *in vitro* по свойству перенаправленной цитотоксичности Т-клеток (ПЦТК) клеточной линии CD20⁺ лимфомы Рамоса Беркитта, клеточной линии Jeko-1 CD20⁺ лимфомы клеток мантии (MCL), и клеточной линии RPMI 8266 CD38⁺ миеломы. Было измерено ПЦТК, и также было охарактеризовано продуцирование ИЛ-6 в течение ПЦТК (данные не показаны).

Исследования иммуноглобулинового истощения на мышах huPBL-SCID.

Свойство анти-CD38 x анти-CD3-Fab-scFv-Fc биспецифических антител уменьшать количество иммуноглобулинов человека путем уменьшения количества человеческих В клеток или плазматических клеток оценивали с применением человеческого МКПК (моноклеарные клетки периферической крови), привитых мышам SCID. Результаты показаны на чертежах.

Пример 2. Альтернативные формы.

Получение биспецифических антител.

Схематические рисунки биспецифических антител анти-CD38 х анти-CD3 представлены на фиг. 1. Аминокислотные последовательности для альтернативной формы биспецифических антител анти-CD38 х анти-CD3 приведены на фиг. 39-43. Молекулы ДНК, кодирующие три цепи, необходимые для экспрессии биспецифических антител, были получены путем генного синтеза (Blue Heron Biotechnology, Bothell, штат Вашингтон), и были субклонированы в вектор экспрессии pTT5 с применением стандартных методов молекулярной биологии. Замены были введены с применением или сайт-направленного мутагенеза (QuikChange, Stratagene, Cedar Creek, штат Техас), или дополнительного генного синтеза и субклонирования. ДНК трансфицировали в клетки НЕК293Е для экспрессии, и полученные белки очищали от надосадочной жидкости с помощью аффинной хроматографии с белком А (GE Healthcare) и катион-обменной хроматографии (GE Healthcare). Количество продукта после очистки аффинной хроматографией с белком А показано на фиг. 35. Очистку катион-обменной хроматографией проводили с применением колонки HiTrap SP HP (GE Healthcare) с промывным/уравновешивающим буфером 50 mM MES, pH 6,0 и буфером элюции 50 mM MES, pH 6,0 + 1 M NaCl линейного градиента (см. фиг. 36 для хроматограмм).

Перенаправленная цитотоксичность Т-клеток.

Анти-CD38 х анти-CD3 биспецифические антитела были охарактеризованы *in vitro* по свойству перенаправленной цитотоксичности Т-клеток (ПЦТК) клеточной линии RPMI8266 CD38⁺ миеломы. 10 тыс. клеток RPMI8266 инкубировали в течение 24 ч с 500 тыс. человеческих МКПК. ПЦТК измеряли с помощью ЛДГ флуоресценции, как указано (см. фиг. 37).

Пример 3. Перенаправленная цитотоксичность Т-клеток.

Анти-CD38 х анти-CD3 Fab-scFv-Fc биспецифические антитела были охарактеризованы *in vitro* по свойству перенаправленной цитотоксичности Т-клеток (ПЦТК) клеточной линии RPMI8266 CD38⁺ миеломы. 40 тыс. клеток RPMI8266 инкубировали в течение 96 ч с 400 тис человеческих МКПК. ПЦТК измеряли проточной цитометрией, как указано (см. фиг. 44). Экспрессия CD69, Ki-67 и PI-9 Т-клетками CD4⁺ и CD8⁺ также была охарактеризована проточной цитометрией и показана на фиг. 45.

Мышиная модель противоопухолевой активности.

Четырем группам мышей NOD SCID гамма (NSG) по пять мышей в каждой были привиты 5×10^6 опухолевых клеток RPMI8226TrS (множественная миелома, люциферазо-экспрессирующие клетки) путем внутривенной инъекции в вену хвоста в День -23. В День 0 мышам внутрибрюшинно прививали 10×10^6 человеческих МКПК. После приживления МКПК в День 0 тестовые изделия дозировали еженедельно (Дни 0, 7) путем внутрибрюшинной инъекции в дозах, указанных на фиг. 4. Дизайн исследования дополнительно резюмирован на фиг. 46. Рост опухоли наблюдали, измеряя общий поток на мышь, используя *in vivo* систему визуализации (IVIS®). Оба, XmAb13551 и XmAb15426, показали существенные противоопухолевые эффекты (см. фиг. 47 и 48).

Исследования, проведенные на яванских макаках.

Яванским макакам вводили одну дозу биспецифических антител анти-CD38 х анти-CD3. Также был включен биспецифический контроль анти-RSV х анти-CD3. Величины доз составляли: 20 мкг/кг XmAb13551 (n=2), 0,5 мкг/кг XmAb15426 (n=3), 3 мкг/кг XmAb14702 (n=3), или 3 мкг/кг XmAb13245 (контроль анти-RSV х анти-CD3, n=3) (в трех независимых исследованиях). Биспецифические антитела анти-CD38 х анти-CD3 быстро уменьшали количество клеток CD38⁺ в периферической крови (см. фиг. 49). Биспецифические антитела анти-CD38 х анти-CD3 вызывали активацию Т-клеток, как было измерено с помощью экспрессии CD69 (см. фиг. 50). Также измеряли уровни ИЛ-6 в сыворотке (см. фиг. 51). Следует отметить, что, по сравнению с XmAb13551, XmAb15426 имел повышенную продолжительность уменьшения количества клеток CD38⁺ и более низкие уровни активации Т-клеток и продукции ИЛ-6.

XmAb15426 и XmAb14702 были испытаны в одиночных дозах 0,5 и 3 мг/кг соответственно. Оба антитела были хорошо переносимыми при этих более высоких дозах, в соответствии с умеренным уровнем ИЛ-6, наблюдаемым в сыворотке, полученной из обработанных обезьян. Кроме того, XmAb15426, с промежуточной аффинностью к CD3, более эффективно уменьшал количество клеток CD38⁺ при дозе 0,5 мг/кг по сравнению с первоначальной высокой аффинностью XmAb13551, введенного в дозах 2, 5 или 20 мкг/кг. Уменьшение количества антителом XmAb15426 было более замедленным по сравнению с наиболее высокой дозой XmAb13551 в предыдущем исследовании (7 против 2 дней соответственно). Следует отметить, что хотя уменьшение количества клеток-мишеней было больше для XmAb15426, активация Т-клеток (индукция CD69, CD25 и PD1) была значительно ниже у обезьян, обработанных XmAb15426 в дозе, что была выше в 25 раз, чем доза 20 мкг/кг группы XmAb13551. XmAb14702 с очень низкой аффинностью к CD3 обладал небольшим эффектом на клетки CD38⁺ и активацию Т-клеток.

Эти результаты показывают, что модулирование активации Т-клеток путем ослабления CD3-сродства является перспективным способом для улучшения терапевтического окна вовлечения Т-клеток биспецифическими антителами. Данная стратегия имеет потенциал для расширения набора антигенов, поддающихся целевой Т-клеточной иммунотерапии, путем улучшения переносимости и обеспечения возможности более высокого дозирования для преодоления снижения клиренса антигеном с такими це-

лями, как CD38. Мы показали, что, снижая аффинность к CD3, XmAb 15426 эффективно уменьшает количество клеток CD38+, минимизируя эффекты CRS ween при сопоставимых дозах его высокоаффинного аналога XmAb13551.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Гетеродимерное антитело для связывания CD3 и CD38, содержащее:
 - a) первый мономер, содержащий:
 - i) первый домен Fc;
 - ii) анти-CD3 scFv, содержащий переменный легкий домен scFv, scFv-линкер и переменный тяжелый домен scFv; причем указанный scFv ковалентно присоединен к N-концу указанного домена Fc, используя домен-линкер; и

указанный переменный легкий домен scFv содержит vLCDR1, имеющий SEQ ID NO:15, vLCDR2, имеющий SEQ ID NO:16, и vLCDR3, имеющий SEQ ID NO:17, и указанный переменный тяжелый домен scFv содержит vhCDR1, имеющий SEQ ID NO:11, vhCDR2, имеющий SEQ ID NO:12, и vhCDR3, имеющий SEQ ID NO:13;
 - b) второй мономер, содержащий тяжелую цепь, содержащую:
 - i) переменный тяжелый домен; и
 - ii) константный тяжелый домен, содержащий второй домен Fc; и
 - c) легкую цепь, содержащую переменный легкий домен и константный легкий домен;

причем указанный переменный тяжелый домен и указанный переменный легкий домен связывают CD38 и

указанный переменный легкий домен содержит vLCDR1, имеющий последовательность RASQNVDTWVA (SEQ ID NO:69), vLCDR2, имеющий последовательность SASYRYS (SEQ ID NO:70), и vLCDR3, имеющий последовательность QQYDSYPLT (SEQ ID NO:71), и указанный переменный тяжелый домен содержит vhCDR1, имеющий последовательность RSWMN (SEQ ID NO:65), vhCDR2, имеющий последовательность EINPDSSTINYATSVKG (SEQ ID NO:66), и vhCDR3, имеющий последовательность YGNWFPY (SEQ ID NO:67).
2. Гетеродимерное антитело по п.1, отличающееся тем, что указанный переменный легкий домен содержит последовательность


```
DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDPDRFTG
SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYDSYPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:68),
```

и указанный переменный тяжелый домен содержит последовательность

```
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDGSRSWMNWVRQAPGKLEWVSEINPDSSTINYATSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:64).
```
3. Гетеродимерное антитело по п.1 или 2, в котором указанный переменный легкий домен scFv имеет последовательность SEQ ID NO:14 и указанный переменный тяжелый домен scFv имеет последовательность SEQ ID NO:10.
4. Гетеродимерное антитело по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что указанный scFv имеет последовательность SEQ ID NO:18.
5. Гетеродимерное антитело по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что указанный первый домен Fc и указанный второй домен Fc содержат набор вариантов, выбранных из группы, состоящей из S364K/E357Q: L368D/K370S; L368D/K370S: S364K; L368E/K370S: S364K; T411T/E360E/Q362E: D401K; L368D/K370S: S364K/E357L и K370S: S364K/E357Q.
6. Гетеродимерное антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что указанный scFv-линкер представляет собой заряженный линкер.
7. Гетеродимерное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что указанный константный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные замены N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D.
8. Гетеродимерное антитело по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что указанный первый и второй домены Fc содержат аминокислотные замены E233P/L234V/L235A/G236del/S267K.
9. Гетеродимерное антитело по п.1, в котором первый мономер содержит SEQ ID NO:104; второй мономер содержит SEQ ID NO:109 и легкая цепь содержит SEQ ID NO:111.
10. Композиция нуклеиновых кислот для продукции гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, которая содержит:
 - a) первую нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный первый мономер по любому из пп.1-9;
 - b) вторую нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный второй мономер по любому из пп.1-9; и
 - c) третью нуклеиновую кислоту, кодирующую указанную легкую цепь по любому из пп.1-9.
11. Композиция векторов экспрессии для продукции гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, содержащая:
 - a) первый вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный первый мономер по любому из пп.1-9;

б) второй вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный второй мономер по любому из пп.1-9; и

с) третий вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанную легкую цепь по любому из пп.1-9.

12. Клетка-хозяин, содержащая композицию нуклеиновых кислот по п.10.

13. Клетка-хозяин, содержащая композицию векторов экспрессии по п.11.

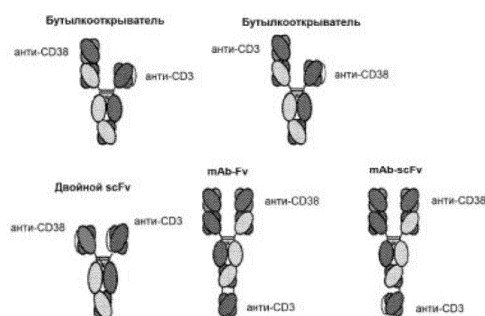
14. Способ получения гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, включающий культивирование клетки-хозяина по п.12 или 13 в условиях, в которых экспрессируется указанное антитело, и сбор указанного антитела.

15. Композиция для продукции гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, содержащая: а) первый вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный первый мономер гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, и б) второй вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный второй мономер гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, и нуклеиновую кислоту, кодирующую указанную легкую цепь гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9.

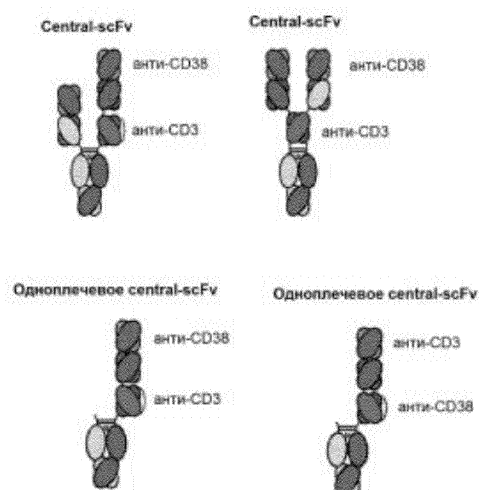
16. Клетка-хозяин, содержащая композицию по п.15.

17. Способ получения гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9, включающий культивирование клетки-хозяина по п.15 в условиях, в которых указанное антитело экспрессируется, и сбор указанного антитела.

18. Способ лечения гемопозитического рака, включающий введение гетеродимерного антитела по любому из пп.1-9 пациенту.



Фиг. 1А



Фиг. 1В

037065

High CD3: анти-CD3_H1.30_L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариантальный линейный (v0) домен	EVQLVESGGGLVQPGSLRSCAASGFTT SYAM NWVWQAPGKLEWVG IRISKNNYNTIYADGV RGFTISRDSKNTLY LQMNSLRATGATVYVC PHGNCISGSPGSGK FAEWGCGTITVVS	1
vHCDR1	TYAMN	2
vHCDR2	RIRSKNNYNTIYADVSG	3
vHCDR3	HGNGDSYVSWFAY	4
Вариантальный линейный (v0) домен	QAVYIQEPLSYVSGPGTIVLT CGSTGATSYN YAWVQKPKSPRG LGSTNK APCVAPFSGSLGGKAALTSIGAQPE DEADYCY ALWYSHHW YGGGTGKTLVL	5
vCDR1	GSSTGATVTSYAN	6
vCDR2	GTNKAP	7
vCDR3	ALWYSHHW	8
isoFv (полно- размерный линеар)	EVQLVESGGGLVQPGSLRSCAASGFTT SYAM NWVWQAPGKLEWVG IRISKNNYNTIYADGV RGFTISRDSKNTLY LQMNSLRATGATVYVC PHGNCISGSPGSGK FAEWGCGTITVVS EVQLVESGGGLVQPGSGK PGSGK PGSGK QAVYIQEPLSYVSGGT VLT LT CGSTGATSYN YAWVQKPKSPRG LG STNK APCVAPFSGSLGGKAALTSIGAQPEADYCY ALWYSHHW YGGGTGKTLVL	9

Фиг. 2

High-Int #1 CD3: [ahtw-CD3_H1.32_L1.47](#)[illegible]

Фиг. 3

High-Int #2 CD3: anti-CD3 H1.89 L1.47

Объект	полное наименование	SEQ ID NO:
Варпаветский период (v1) домен	EVLQVSGGGVLPQGSLRLSCAAGFTTSTYAMNVRQAPGKLEWVGIRIKYNNYATYADSVGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRADETAVYVCVRHSGNGDETVSNFAWGGQSLTLTVSS	19
vCDR1	TYAMN	20
vCDR2	RIRSKYNNYATYADSVIG	21
vCDR3	HGNGFDETVSWFAY	22
Варпаветский период (v1) домен	QAVVYIQEPLVPSYGGVLTLTGGSTGVTSTNYABWVQKQPGKSPGLUGLGNKRAPGVPAFSSGLGKAALTISGAQPEDEADYCAWYNNHWYFGGGTKTLTVL	23
vCDR1	GSGTGAVTSTNYAN	24
vCDR2	GTNKRAP	25
vCDR3	ALWYNNHW	26
сFv (полное именование цепочки)	EVLQVSGGGVLPQGSLRLSCAAGFTTSTYAMNVRQAPGKLEWVGIRIKYNNYATYADSVGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRADETAVYVCVRHSGNGDETVSNFAWGGQTLTVSSGPGSLGPGKPGGPGSGQAQVETVPSLTVSPGGT VTLTGSGSTGVTSTNYANWVQKQPKSPGLUGLGNKRAPGVPAFSSGLGKAALTISGAQPEDEADYCAWYNNHWYFGGGTKTLTVL	27

Фиг. 4

High-Int #3 CD3: anti-CD3 H1.90 L1.47

Объект	последовательность	SEQ ID NO.
Вариантный пептид (vB) домен	EVQLVGGGVLPGQSLRLCAASGFTSTYAMNWRRQAPGKGLGVGRISKNNYNTYADSVGRFTISDSDSNTLYIQMNIIRAEETAYVYCRHGNGDPVYWFATWGGSGLTVSS	28
vCDR1	TYAMN	29
vCDR2	RISKNNYNTYADSVGRG	30
vCDR3	HGNGDPVYWFAT	31
Вариантный пептид (vI) домен	QAVYTEPLRITVYGGGTYLTLCGSSTGAVTNNYANWVQKPKSGRLIGTGNIKRAPGVAFRSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYICWYNNHWYFGGGTSLTV	32
vCDR1	GSSTGAVTNNYAN	33
vCDR2	GTNKRAP	34
vCDR3	ALWYNNHW	35
scFv (включая дополнительный пептид)	EVQLVGGGVLPGQSLRLCAASGFTSTYAMNWRRQAPGKGLGVGRISKNNYNTYADSVGRFTISDSDSNTLYIQMNIIRAEETAYVYCRHGNGDPVYWFATWGGSGLTVSSGPSGRGSPGSGKPGKQAVYTEPLRITVSPGGTSLTVTCGSSTGAVTNNYANWVQKPKSGRLIGTGNIKRAPGVAFRSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYICWYNNHWYFGGGTSLTV	36

Фиг. 5

037065

Промежуточный CD3: анти-CD3_H1.33_L1.47

Объект	Роскодователность	SEQ ID NO:
Вариебельный геном (v1) домин	EQVLEVGGGGLGVPQGLSLCAASGFTT TYAMN WVRQAPGKGLG WVG GRISKYNNNTYATYADSVKGR FTSRDSDSNTLY LQMSLRADETAYTAVY VRHGNFGDSVSWED WGGGGLTVTSS	37
vCDR1	TYAMN	38
vCDR2	RURSKYNNNTYATYADSVK	39
vCDR3	HGNFGDSVSWF DY	40
Вариебельный геном (v1) домин	GAIVYTPSPKLTSPGGTGTTLT CGSSGTGVTNTAN WVQKPKSPK PLGLIGR GRNRA QVPFARPSGLSGKGAALTKGAQLE DEADY CALWYSNHW VFGGGGLTFLV	41
vCDR1	CGSTGAVTTSNYAN	42
vCDR2	GTNKRAP	43
vCDR3	ALWYSNHWV	44
vCp геном закрепленный гипер	EQVLEVGGGGLGVPQGLSLCAASGFTT TYAMN WVRQAPGKGLG WVG GRISKYNNNTYATYADSVKGR FTSRDSDSNTLY LQMSLRADETAYTAVY VRHGNFGDSVSWED WGGGGLTVTSS PGSGSGSGSGPSGSG QAVYTPSPKLTSPGGT TLT CGSSGTGVTNTAN WVQKPKSPK PLGLIGR GRNRA QVPFARPSGLSGKGAALTKGAQLEADY CALWYSNHW VFGGGGLTFLV	45

ФИГ. 6

Low CD3: anti-CD3_H1.31_L1.47

Объект	Полнозначительность	SEQ ID NO:
Варибельный линей (n) домен	EQVLVEGGGLVQPGSLRLCAAGFTFTLYAMQWVRQAPGRGLEWVG BISSKYNNTATYADSVGKFTSRDSDNTLYL QMRLSRAEDIATVYVCYR HNIGSDYSWFAW GGSGTLTVTS	46
vICDR1	TYAMS	47
vICDR2	RIRSEYNNTATYADSVKG	48
vICDR3	HGMFGDSYVWFAY	49
Варибельный линей (n) домен	QAVYQITFVTSVPGVTLTLTGSSITGAYTANVWVQDQPKSPKSGITGGT NRAPV PARFSGSLGGKAALTGGAQPE DEADYIC ALWYSNHWY FGGGTLKTLV	50
vICDR1	GSTTGAVTISNYAN	51
vICDR2	GTNKRAP	52
vICDR3	ALWYSNHWY	53
vICV (дополня- ющий линей)	EQVLVEGGGLVQPGSLRLCAAGFTFTLYAMQWVRQAPGRGLEWVG BISSKYNNTATYADSVGKFTSRDSDNTLYL QMRLSRAEDIATVYVCYR HNIGSDYSWFAW GGSGTLTVTS SGPGSGGSGSGSGSG QAVYQITFVTSVPGV TLTGSSITGAYTANVWVQDQPKSPKSGITGGT NRAPV PARFSGSLGGKAALTGGAQPEADYIC ALWYSNHWY FGGGTLKTLV	54

Фиг. 7

High CD38: OKT10_H1.77_L1.24

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариант пептида тканый (н) домин	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVWRQAPGKGLWEVSPQSTINATYSVKGFTFRDKNSTLTQLQ MNSLRADETAVYVCARYGNSWEPFVGGGTLTVSS	55
vCDR1	YSWMW	56
vCDR2	ELNPQSTINATYSVKG	57
vCDR3	YGNWFFY	58
Вариант пептида тканый (н) домин	DIVTMTSPGSLASVSGVDRTITC ASQNVDTWVA WYQKPGSGPKALP ASVRYSG VPDRFTGGSGGDTFLTISLQPE DA TYFCQYDSTVPLTGGGTKLEK	59
vCDR1	RASQNVDTWVA	60
vCDR2	SASRYTS	61
vCDR3	LSLTVTPLT	62
нФ (лиганд эпитопный гипер)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVWRQAPGKGLWEVSPQSTINATYSVKGFTFRDKNSTLTQLQ MNSLRADETAVYVCARYGNSWEPFVGGGTLTVSSGPGSGKPGSGGKPSGDPVDMTSPSLASVSGVDRTITC ASQ NYDTWVAWYQKPGSGPKALP ASVRYSG VPDRFTGGSGGDTFLTISLQPE DA TYFCQYDSTVPLTGGGTKLEK	63

Фиг. 8

Промежуточный CD38: OKT10_H1L1.24

Объект	последовательность	SEQ ID NO:
Вариантный тепловый (н/л) домов	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLCAASGFDPSRWMMNVRQAPGKGLVWVSINPDSTINATYSVKGRFTSRDNKNLTLYLQ MNSLRADETAVYVCARYGWEPYVGGGTILTVSS	64
vCDR1	ISWMM	65
vCDR2	ELINPDSTINATYSVKG	66
vCDR3	YGNWFFY	67
Вариантный плазменный (н/л) домов	DIIVTQDPSSLSASVGDVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGGSKPALISYRISGVDPRTFGSGGDTFLTITSLQPEDFIA THYFCQGYDPTFGGGLTKLEK	68
vCDR1	RASQNVDTWVA	69
vCDR2	SASRYYS	70
vCDR3	IGDYDTPTPL	71
сГР (включая заряженный элемент)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLCAASGFDPSRWMMNVRQAPGKGLVWVSINPDSTINATYSVKGRFTSRDNKNLTLYLQ MNSLRADETAVYVCARYGWEPYVGGGTILTVSSIKPGGSGKPGSGVDPVITQDPSSLSASVGDVITTCRASQ NVDTWVAWYQKPGGSKPALISYRISGVDPRTFGSGGDTFLTITSLQPEDFIATYFCQGYDPTFGGGLTKLEK	72

ФИГ. 9

Low CD38: OKT10_H1L1

Объект	последовательность	SEQ ID NO.
Вспомогательный пептид (h) домен	EVGLVSGGGLVPGGRLSCAAGDFDSEWMWVVRQAPGKGLIEWSEINPDISTNATYSVGKGRFTSRDKNSTNLTLQ MNSLRADTAVYCARIGNWIPWGGQTLTVSS	73
vICDR1	IGWMM	74
vICDR2	ENPDISTNATYSVGK	75
vICDR3	YGNWIFY	76
Вспомогательный пептид (g) домен	EVGLVSGGGLVPGGRLSCAAGDFDSEWMWVVRQAPGKGLIEWSEINPDISTNATYSVGKGRFTSRDKNSTNLTLQ MNSLRADTAVYCARIGNWIPWGGQTLTVSS	77
vCDR1	RASQNVDTVA	78
vCDR2	SASYRYS	79
vCDR3	GGQVDFLET	80
сЗВ полноценная зрелая форма	EVGLVSGGGLVPGGRLSCAAGDFDSEWMWVVRQAPGKGLIEWSEINPDISTNATYSVGKGRFTSRDKNSTNLTLQ MNSLRADTAVYCARIGNWIPWGGQTLTVSSGPGSGKPGSGPGKGVGLVSGGGLVPGGRLSCAAGDFDSEWMWVVRQAPGKGLIEWSEINPDISTNATYSVGKGRFTSRDKNSTNLTLQMNSLRADTAVYCARIGNWIPWGGQTLTVSS	81

ФИГ. 10

037065

XENP15331

XENP13551 HC-Fab-SEQ ID NO:82

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQDSSTINATSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFPYWG
QGTLTVTYSAATKGPSVFLAPSSASTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSDVHTFPAVLQSSGLYSLVVTPVSSSGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKVEPKSC
DKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

XENP13551 HC-scFv-SEQ ID NO:83

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS
YVSWFAYWGQGTLTVTYSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCGSSGAVTTSYANWVQKPGKSPRGLUGGTNRAPGVPAHFSGSL
GGKAALTSGAQPEDEADYICALWYNNHWVFGGDTLTVLEPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYK
TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP13551 LC-SEQ ID NO:84

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALYSASYRSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTSSLPQEDFATYFCQDYDSYPLTFGGGTLEIKRTVA
APSVFHPSPDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWVQNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 11

XENP13243 HC-Fab-SEQ ID NO:85

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQDSSTINATSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFPYWG
QGTLTVTYSAATKGPSVFLAPSSASTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSDVHTFPAVLQSSGLYSLVVTPVSSSGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKVEPKSC
DKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

XENP13243 HC-scFv-SEQ ID NO:86

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDS
YVSWFAYWGQGTLTVTYSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCGSSGAVTTSYANWVQKPGKSPRGLUGGTNRAPGVPAHFSGSL
GGKAALTSGAQPEDEADYICALWYNNHWVFGGDTLTVLEPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYK
TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP13243 LC-SEQ ID NO:87

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALYSASYRSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTSSLPQEDFATYFCQDYDSYPLTFGGGTLEIKRTVA
APSVFHPSPDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWVQNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 12

XENP14702 a2m-CD3 Fab-scFv-Fc: tekelan-gerb. 1 (a2m-CD38 Fab-Fc (OKT10 H1.77)) SEQ ID NO: 88

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQDSSTINATSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFPYWG
QGTLTVTYSAATKGPSVFLAPSSASTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSDVHTFPAVLQSSGLYSLVVTPVSSSGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKVEPKSC
DKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

XENP14702 a2m-CD38 x a2m-CD3 Fab-scFv-Fc: tekelan-gerb. 2 (a2m-CD3 scFv-Fc (aCD3 H1.31 L1.47)) SEQ ID NO: 89

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
VSWFAYWGQGTLTVTYSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCGSSGAVTTSYANWVQKPGKSPRGLUGGTNRAPGVPAHFSGSLG
GKAALTSGAQPEDEADYICALWYNNHWVFGGDTLTVLEPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTT
PPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP14072 a2m-CD38 x a2m-CD3 Fab-scFv-Fc: tekelan-gerb. (a2m-CD38 (OKT10 L1.24)) SEQ ID NO: 90

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALYSASYRSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTSSLPQEDFATYFCQDYDSYPLTFGGGTLEIKRTVA
APSVFHPSPDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWVQNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 13

XENP15426 a2m-CD38 (OKT10_H1.77_L1.24, CD38high) x a2m-CD3 (H1.33_L1.47, CD3med) Fab-scFv-Fc

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQDSSTINATSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFPYWG
QGTLTVTYSAATKGPSVFLAPSSASTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSDVHTFPAVLQSSGLYSLVVTPVSSSGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKVEPKSC
DKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
VSWFAYWGQGTLTVTYSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCGSSGAVTTSYANWVQKPGKSPRGLUGGTNRAPGVPAHFSGSLG
GKAALTSGAQPEDEADYICALWYNNHWVFGGDTLTVLEPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTT
PPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:93)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALYSASYRSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTSSLPQEDFATYFCQDYDSYPLTFGGGTLEIKRTVA
APSVFHPSPDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWVQNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 14

XENP14701 a2m-CD38 x a2m-CD3 Fab-scFv-Fc: tekelan-gerb. 1 (a2m-CD38 Fab-Fc (OKT10 H1)) (SEQ ID NO:94)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSEINPQDSSTINATSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFPYWG
QGTLTVTYSAATKGPSVFLAPSSASTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSDVHTFPAVLQSSGLYSLVVTPVSSSGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKVEPKSC
DKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

XENP14701 a2m-CD38 x a2m-CD3 Fab-scFv-Fc: tekelan-gerb. 2 (a2m-CD3 scFv-Fc (aCD3 H1.31 L1.47)) (SEQ ID NO:95)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY
VSWFAYWGQGTLTVTYSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCGSSGAVTTSYANWVQKPGKSPRGLUGGTNRAPGVPAHFSGSLG
GKAALTSGAQPEDEADYICALWYNNHWVFGGDTLTVLEPKSSDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMSRTPETVTCVVDVHDEPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTPREEEYNSTRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDGGQPENNYKTT
PPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQGDVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP14701 a2m-CD38 x a2m-CD3 Fab-scFv-Fc: netaan-gerb. (a2m-CD38 (OKT10 L1)) (SEQ ID NO:96)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALYSASYRSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTSSLPQEDFATYFCQDYDSYPLTFGGGTLEIKRTVA
APSVFHPSPDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWVQNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 15

XENP14703 **anne-CD38** x **anne-CD3 Fab-scFv-Fc** **тхеллаз цомь 1 (anne-CD38 Fab-Fc (OKT10 H1)) (SEQ ID NO:97)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRSMNNWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPW
GGQTLTVTSV/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKDKVEPK
CDKTHITCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTTFPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

XENP14703 **anne-CD38** x **anne-CD3 Fab-scFv-Fc** **тхеллаз цомь 2 (anne-CD3 scFv-Fc (iCD3 H1.31 L1.47)) (SEQ ID NO:98)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHNGFDG
YSWFAIYWGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSLTVSPGGTVTLT/CQSSITGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLGGITNKRAPQVPARFSGSLG
GKAALTSGAQPEDEADYICALWYSNHWLFGGGTKLTVL/EPKSDKHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTT
PPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP14703 **anne-CD38** x **anne-CD3 Fab-scFv-Fc** **тхеллаз цомь 3 (anne-CD38 (OKT10 L1.53)) (SEQ ID NO:99)**

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNYDTINAWYQKPGQSPKALP/SASVRSQVDPDRFTSGSGGTDFLTLSLQPEDFATYFCQQTDSYPLTFGGGKLEIRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQSEVTEQDSKDSYISSTLTLSKADYERKHYPACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 16

XENP13243 **anne-CD38 (OKT10_H1L1)** x **anne-CD3 (H1_30_L1.47) Fab-scFv-Fc**

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRSMNNWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPW
GGQTLTVTSV/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKDKVEPK
CDKTHITCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTTFPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHNGFDG
YSWFAIYWGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSLTVSPGGTVTLT/CQSSITGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLGGITNKRAPQVPARFSGSLG
GKAALTSGAQPEDEADYICALWYSNHWLFGGGTKLTVL/EPKSDKHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTT
FPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:102)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNYDTINAWYQKPGQSPKALP/SASVRSQVDPDRFTSGSGGTDFLTLSLQPEDFATYFCQQTDSYPLTFGGGKLEIRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQSEVTEQDSKDSYISSTLTLSKADYERKHYPACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 17

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

HC 1 (SEQ ID NO:103)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRSMNNWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPW
GGQTLTVTSV/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKDKVEPK
CDKTHITCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTTFPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:104)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHNGFDG
YSWFAIYWGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSLTVSPGGTVTLT/CQSSITGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLGGITNKRAPQVPARFSGS
L/GGKAALTSGAQPEDEADYICALWYSNHWLFGGGTKLTVL/EPKSDKHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTT
FPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:105)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNYDTINAWYQKPGQSPKALP/SASVRSQVDPDRFTSGSGGTDFLTLSLQPEDFATYFCQQTDSYPLTFGGGKLEIRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQSEVTEQDSKDSYISSTLTLSKADYERKHYPACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 18

XENP18971 **anne-CD38 (OKT10_H1L1)** x **anne-CD3 (SP34_H1.32_L1.47) mAb-scFv**

HC 1 (SEQ ID NO:106)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRSMNNWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPW
GGQTLTVTSV/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKDKVEPK
CDKTHITCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTTFPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:107)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHNGFDG
YSWFAIYWGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSLTVSPGGTVTLT/CQSSITGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLGGITNKRAPQVPARFSGS
L/GGKAALTSGAQPEDEADYICALWYSNHWLFGGGTKLTVL/EPKSDKHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTT
FPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:108)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNYDTINAWYQKPGQSPKALP/SASVRSQVDPDRFTSGSGGTDFLTLSLQPEDFATYFCQQTDSYPLTFGGGKLEIRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQSEVTEQDSKDSYISSTLTLSKADYERKHYPACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 19

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

HC 1 (SEQ ID NO:109)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRSMNNWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPW
GGQTLTVTSV/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKDKVEPK
CDKTHITCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKAL
PAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTTFPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:110)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMNWWVRQAPGKGLVWVSEINPDSSTINYATVSGRFTSRDQNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHNGFDG
YSWFAIYWGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSLTVSPGGTVTLT/CQSSITGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLGGITNKRAPQVPARFSGS
L/GGKAALTSGAQPEDEADYICALWYSNHWLFGGGTKLTVL/EPKSDKHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAVEWESDGGPENNYKTT
FPVLDSGDSFFLYSLTVDKSRWQGGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:111)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNYDTINAWYQKPGQSPKALP/SASVRSQVDPDRFTSGSGGTDFLTLSLQPEDFATYFCQQTDSYPLTFGGGKLEIRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQSEVTEQDSKDSYISSTLTLSKADYERKHYPACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 20

037065

XENP18970 anti-CD38 (OKT10_H1L1.24) x anti-CD3 (BP34_H1.31_1.47) mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:112)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAVGGNWFPPW
GGDTLVYS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPPSSLTGTQYICNVNHPKSTQVDKVEPK
SCKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKAL
PAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAWEVESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:113)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCVPHGNFGDSY
YSWYATWGGDTLVYS/SGDSGKPGSGKSGSGKSG/DAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSGTGAVTSNANWVQDQPKGSPRLGLGGLNRRAPGVPAFSSGL
GGAAALTSQAQPEADPYCALWYSNHWYFGGGTLTVL/EPKSKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKALPAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAWEVESNGQPENNY
TTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:114)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITTCASQNVDTNWAWYQQKPGQSPKALPVASVYDSGVPRFTGSGSGTDFTLTSSIQPEDAFYFCQQYDSYPLTFGGGTLEIK/RTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 21

XENP18972 anti-CD38 (OKT10_H1L1) x anti-CD3 (BP34_H1.33_1.47) mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:115)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAVGGNWFPPW
GGDTLVYS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPPSSLTGTQYICNVNHPKSTQVDKVEPK
SCKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKAL
PAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAWEVESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYT
QKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:116)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCVPHGNFGDSY
YSWYATWGGDTLVYS/SGDSGKPGSGKSGSGKSG/DAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSGTGAVTSNANWVQDQPKGSPRLGLGGLNRRAPGVPAFSSGL
GGAAALTSQAQPEADPYCALWYSNHWYFGGGTLTVL/EPKSKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKALPAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAWEVESNGQPENNY
KTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:117)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITTCASQNVDTNWAWYQQKPGQSPKALPVASVYDSGVPRFTGSGSGTDFTLTSSIQPEDAFYFCQQYDSYPLTFGGGTLEIK/RTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 22

XENP18973 anti-CD38 (OKT10_H1L1) x anti-CD3 (BP34_H1.31_1.47) mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:118)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAVGGNWFPPW
GGDTLVYS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPPSSLTGTQYICNVNHPKSTQVDKVEPK
SCKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKAL
PAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAWEVESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYT
QKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:119)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCVPHGNFGDSY
YSWYATWGGDTLVYS/SGDSGKPGSGKSGSGKSG/DAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSGTGAVTSNANWVQDQPKGSPRLGLGGLNRRAPGVPAFSSGL
GGAAALTSQAQPEADPYCALWYSNHWYFGGGTLTVL/EPKSKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKALPAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAWEVESNGQPENNY
TTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:120)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTITTCASQNVDTNWAWYQQKPGQSPKALPVASVYDSGVPRFTGSGSGTDFTLTSSIQPEDAFYFCQQYDSYPLTFGGGTLEIK/RTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 23

XENP1977 anti-CD38 (OKT10_H1L1) x anti-CD3 (BP34_H1.31_1.47) mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:121)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAVGGNWFPPW
GGDTLVYS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPPSSLTGTQYICNVNHPKSTQVDKVEPK
SCKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKAL
PAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAWEVESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYT
QKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:122)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCVPHGNFGDSY
YSWYATWGGDTLVYS/SGDSGKPGSGKSGSGKSG/DAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSGTGAVTSNANWVQDQPKGSPRLGLGGLNRRAPGVPAFSSGL
GGAAALTSQAQPEADPYCALWYSNHWYFGGGTLTVL/EPKSKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKALPAPEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAWEVESNGQPENNY
TTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:123)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTITTCASQNVDTNWAWYQQKPGQSPKALPVASVYDSGVPRFTGSGSGTDFTLTSSIQPEDAFYFCQQYDSYPLTFGGGTLEIK/RTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 24

XENP13544 anti-CD38 (OKT10_H1L1, CD38aw) x anti-CD3 (H1.79_1.148) Fab-scFv-Fc

HC 1 (Fab-Fc) (SEQ ID NO:124)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCAVGGNWFPPW
GGDTLVYS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPPSSLTGTQYICNVNHPKSTQVDKVEPK
SCKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKA
LPAPKETSIAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPYSDIAWEVESDGGQPENNYKTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHY
TQKLSLSPGK

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKLEWYVEINFDSTNYATSVKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCVPHGNFGDSY
YSWYATWGGDTLVYS/SGDSGKPGSGKSGSGKSG/DAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSGTGAVTSNANWVQDQPKGSPRLGLGGLNRRAPGVPAFSSGL
GGAAALTSQAQPEADPYCALWYSNHWYFGGGTLTVL/EPKSKDHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVHKHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKALPAPEKTSIAKAGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAWEVESNGQPENNY
KTPPVLDSGGSFFLYSLTVDKSRWQGGQNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:126)

DIVMTQSPSSLSASVGDRTITTCASQNVDTNWAWYQQKPGQSPKALPVASVYDSGVPRFTGSGSGTDFTLTSSIQPEDAFYFCQQYDSYPLTFGGGTLEIK/RTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 25

XENP13694 aine-CD38 (OKT10_H1_77_L1.24, CD38high) x aine-CD3 (H1_79_L1.48) Fab-ecFv-Fc

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKLEWVSEINPQSTINYATSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGNWFPYW
GQGTLTLYSSASTKGPSTVFLAPSSKSTSGGTALGCLVKDYFPEPTVYSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVSTVPSSSLGTQTYCNVNHKPSDTKVOKKVEPK
SCDKHTCTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKKDTLMSRTPEVTCVVDVHEDPEVKFNWYVDGVEVHINAKTFRREEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKA
LPAREKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCTVSGFYPGSDIAVEWESDGGQENNTKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGGRVFSYCSVMHLEHNHYTQKLSLSLSPGK

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

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNWATYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHNGFGDS
YVSFAYWAGQDTLTLYSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLYVSGGTLYLTGSSSTGAVTTSNANYWQQKPKGSPRIGGTNKRAPGVPAIFSGSL
LGKAAALTSAGQDEADYCALWYSNHWVFGGDTLTLEPKSSDKHTCTCPCPAPPVAGPSVFLPPPKKDTLMSRTPEVTCVVDVHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAREKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESGQENNTY
KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGGRVFSYCSVMHLEHNHYTQKLSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:129)

DIVMTQSPSSLSASVDGRVITTCRASQNVDTWVAWYQKPGQSPKALYASRYSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTSSLPQEDFATYFCQYDYSYPLTFGGGTGLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLSKGTASVYVCLLNNYPFAKRVQWYDNLQSGNSQISVTEQDDKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 26

>ep[P07766]цепь эпислон поверхностного гликопротеина CD3 Т-клеток CD3E_ЧЕЛОВЕКА

(SEQ ID NO:130)

MQSGTHWRVVLGCLLSVGWVGQDGNNEEMGGITQTPYKVISGTTVILTCPYPGSEILWQ

HNDKNIGGDEDDKNIGSDEDLSLKEFSELEQSGYYCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCE

NCMEMDVMVSATIVVDICITGGLLVVYWSKNRKAKAPVTRGAGAGGRQRQGNKERP

PPVPPNDYEPIRKGGQRDLYSGLNQRRRI

Фиг. 27

Последовательность CD38 человека, "*" обозначает соединение с внеклеточным доменом (ECD)

(SEQ ID NO:131)

MANCEFSVPVSGDKPCCRISRRACLCLGVSLVLVLVVVLVV/VPRWRQQWWSGPGTTKRFP

ETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCN

KILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDRWKDC

SNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLQA

WVIHGGREDSRDLCDPTIKELESISKRNIQFSCKNIYRPDKFLQCVKNPDESSCTSEI

домен ECD (SEQ ID NO:132)

VPRWRQQWWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPC

NKILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDRWKDC

SNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLQA

WVIHGGREDSRDLCDPTIKELESISKRNIQFSCKNIYRPDKFLQCVKNPDESSCTSEI

Фиг. 28

Мономер 1	Мономер 2
F40SA	T394F
S384D	T394K
S384E	L388K
S384E	T394K
S384F	K370G
S384H	T394K
S384H	T394F
S384Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F40SA	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S384D	T394K/L351K
L351E/S384E	T394K/L351K
L351E/T388D	L351K/T388K
P395T/V397S/F40SA	T394F
S384D/K370G	S384Y/K370R
S384D/T394F	T394K/F406A
S384E/F40SA	T394K/T394F
S384E/F40SS	T394K/T394Y
S384E/T411E	T394K/D401K
S384H/D401K	T394F/T411E
S384H/F40SA	T394F/T394F
S384H/T394F	T394F/F406A
Y396C/S384E	T394K/S394C
L351E/S384D/F40SA	T394K/L351K/T394F
L351K/S384H/D401K	T394F/L351E/T411E
S384E/T411E/F40SA	T394K/T394F/D401K
S384H/D401K/F40SA	T394F/T394F/T411E
S384H/F40SA/T411E	T394F/T394F/D401K

Фиг. 29А

Мономер 1	Мономер 2
K370E/T411D	T411K
L368E/K408E	L368K
Y348T/T384F/S354C	S354H/F405A/Y348C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S354K
L368E/K370S	S354K
L368E/K370T	S354K
L368E/D401R	S354K
L368E/D401N	S354K
L368E	E357S/S354K
L368E	S354K/K409E
L368E	S354K/K409V
L368D	S354K
L368D/K370S	S354K
L368D/K370S	S354K/E357L
L368D/K370S	S354K/E357Q
T411E/K390E/Q362E	D401K
K370S	S354K
L368E/K370S	S354K/E357Q
K370S	S354K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

Фиг. 29В

Мономер 1	Мономер 2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N360D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S354K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S354K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K390E/Q362E	D401K
K390E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N380K
K360D	K380K/D401N
K360E	T348H
K370S/Q347E	S354K
K370S/E357L	S354K
K370S/E357Q	S354K
K370S/Q347E/E357L	S354K
K370S/Q347E/E357Q	S354K

Фиг. 29С

037065

Мономер 1	Мономер 2
L368DK370S/Q347E	S364K
L368DK370S/E357L	S364K
L368DK370S/E357Q	S364K
L368DK370S/Q347E/E357L	S364K
L368DK370S/Q347E/E357Q	S364K
L368EK370S/Q347E	S364K
L368EK370S/E357L	S364K
L368EK370S/E357Q	S364K
L368EK370S/Q347E/E357L	S364K
L368EK370S/Q347E/E357Q	S364K
L368DK370T/Q347E	S364K
L368DK370T/E357L	S364K
L368DK370T/E357Q	S364K
L368DK370T/Q347E/E357L	S364K
L368DK370T/Q347E/E357Q	S364K
L368EK370T/Q347E	S364K
L368EK370T/E357L	S364K
L368EK370T/E357Q	S364K
L368EK370T/Q347E/E357L	S364K
L368EK370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N380D	D401K/T411K
T411E/C362E	D401R/T411R
T411E/N380D	D401R/T411R
Y407T	T368Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T368W
T366S/L388A/Y407V	T368W
T366S/L388A/Y407V/Y349C	T368W/S354C

Фиг. 29D

PI-варианты

Мономер 1	Мономер 2
K382DK409D	E355K/D336K
K370DK362DK409D	E355K/E357K/D336K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K362N/V367M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K362N/V367M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K362N/V367M/Q419E	N276K
D221E/P228B/L366E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L366E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366K/C362M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K362E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K362N V367M Q419E DEL447	
N208D Q293E N384D Q418E N421D	
N208D Q293E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

Фиг. 29E

pI-варианты

<u>Вариантная</u> <u>константная область</u>	<u>Замены</u>
pI_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pI_(-)_изоэлектрик_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pI_(-)_изоэлектрик_B	N208D Q295E Q418E N421D
pI_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pI_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pI_(+)_изоэлектрик_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pI_(+)_изоэлектрик_B	E269Q E272Q E283Q
pI_(+)_изоэлектрик_E269Q/E272Q	E269Q E272Q
pI_(+)_изоэлектрик_E269Q/E283Q	E269Q E283Q
pI_(+)_изоэлектрик_E272Q/E283Q	E272Q E283Q
pI_(+)_изоэлектрик_E269Q	E269Q

Фиг. 30

Абляционные варианты

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

Фиг. 31

scFv-мономер (+)	Fab-мономер (-)
Гетеродимерные рI-варианты S364K/E357Q	Гетеродимеризационные рI-варианты L368D/K370S
Необязательный заряженный scFv-линкер, включая, но не ограничиваясь (GKPGS) ₄	Изостерические рI-замены N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S для FcRn	± 428L/434S для FcRn
scFv анти-CD3	последовательность Fv для анти-CD38

scFv-мономер	Fab-мономер
Гетеродимерные рI-варианты S364K/E357Q	Гетеродимеризационные рI-варианты L368D/K370S
Необязательный заряженный scFv-линкер, включая, но не ограничиваясь (GKPGS) ₄	рI-замены I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S для FcRn (необязательный)	± 428L/434S для FcRn (необязательный)
scFv анти-CD3	scFv анти-CD38

Фиг. 32

Позитивно заряженные scFv-линкеры

Название	Последовательность	Длина	Заряд	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGSGGGSGGGSGGGS	15	0	
Whitlow linker	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	
брахА_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	
+B	GKGGSGKGGSGKGGG	15	+3	
+C	GGKSGGKGGSGGKGS	15	+3	
+D	GGKSGGKSGGGKS	15	+3	
+E	GKGKSGKGSKGKGS	15	+6	
+F	GGKSGGKSGSGKGGG	15	+3	
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	
+I	GKGKSGKGSKGKSGKGS	20	+8	

Негативно заряженные scFv-линкеры

Название	Последовательность	Длина	Заряд	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGSGGGSGGGSGGGG	20	0	
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDEFD	14	-4	
-B	GEGSGEGSGEGGS	15	-3	
-C	GEGSGEGSGEGGS	15	-3	
-D	GGESEGGESGGGE	15	-3	
-E	GEGESGEGESGEGES	15	-6	
-F	GGESEGGESGEGGS	15	-3	
-G	GEGESGEGESGEGESGEGES	20	-8	

Фиг. 33A

scFv-линкеры

GGGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO: xx)

GGGGSGGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO: xx)

GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: xx)

PRGASKSGSASQTGSAPGS (SEQ ID NO:xx)

GTAAAGAGAAGGAAAGAAG (SEQ ID NO: xx)

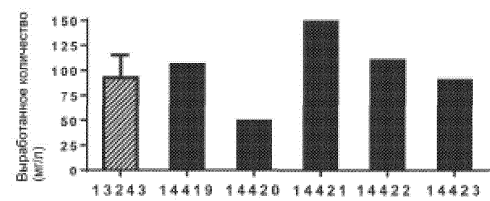
GTSGSSGSGSGSGSGGGG (SEQ ID NO: xx)

GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ IS NO: xx)

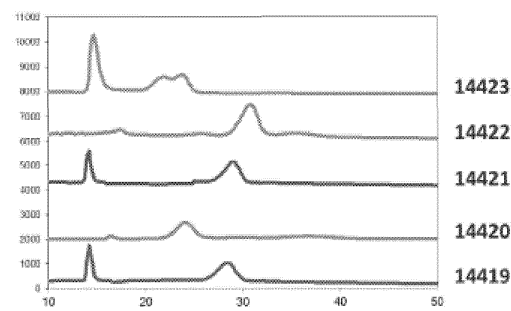
Фиг. 33В

ХЕМР	Гетеродимер-асимметричный вариант, цель 1	Гетеродимер-асимметричный вариант, цель 2	Выход гетеродимера (%)	СНЗ Тm (°C)
12757	нет	нет	52,7	83,1
12758	L368D/K370S	S364K	94,4	76,6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90,2	77,2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95,2	77,5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85,6	80,6
12496	L368E/K370S	S364K	91,5	н.о.
12511	K370S	S364K	59,9	н.о.
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59,5	н.о.
12841	K370S	S364K/E357Q	90,4	н.о.
12894	L368E/K370S	S364K	41,0	н.о.
12895	K370S	S364K	49,3	н.о.
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73,9	н.о.
12901	K370S	S364K/E357Q	87,9	н.о.

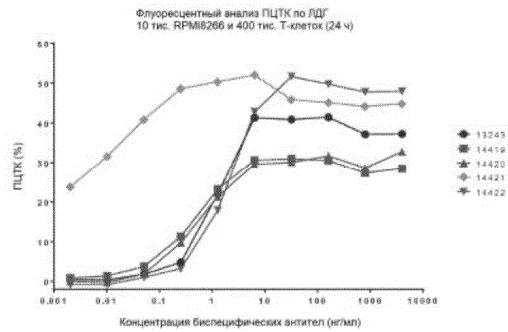
Фиг. 34



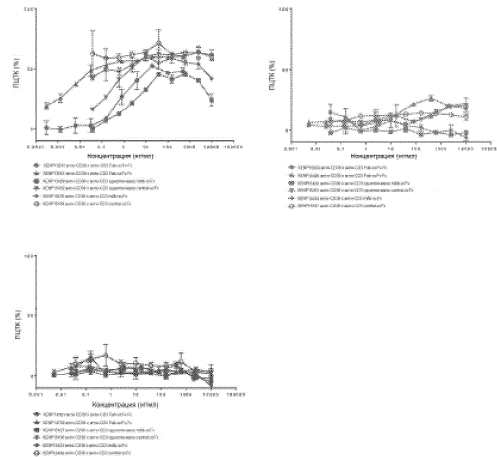
Фиг. 35



Фиг. 36



Фиг. 37



Фиг. 38

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

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDFSR**SWMN**WVRQAPGKGLEWVSEINPDSS**IN**YATSVKGRFTISRDNSKNT
 LYIQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEP**YWGGTLTVTS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEDYNSTYRVVSVLTVLHQDWLW
 GKVKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFPPSDIAVEWESDGGQPENNYKTP
 PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDFSR**SWMN**WVRQAPGKGLEWVSEINPDSS**IN**YATSVKGRFTISRDNSKNT
 LYIQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWEP**YWGGTLTVTS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLW
 GKVKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGG/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFT**YAMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKYHN**YAT**YVADSVKGR**FTISRDNSKNTLYIQM
 NSLRAEDTAVYYC**VRHGNFGDSYVWFAY**WGGTLTVTSVSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSAVVTQEPSTLVSPGGT
 VTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPKGSPRGLIGGT**NKR**APGVPAIFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADY**YCALWYS**
NHWVFGGGTKLTVL

LC (SEQ ID NO:XXX)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITC**ASQNV**DT**NVA**WYQKPGQSPKALY**SASYR**SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQP
 EDFATYFC**QVDSYPLT**FGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 39

LVLQVLSGGMLVPGSGGLRSCAASGFTTSLYAMVNWRRQAPGLVWSENPNDSTNYTSLXGKFTSRDSDKNR
 LYLQMSLRADTVAITGQCNWPPWGGFSLVW52ASTKGSPVLPAWSSSGTGAALCGGLVDFPEPVTVS
 WNSGLTSGVHTFPAVQSGGSLVSLVWPPVSSGLQTYICNHWHSFDTKVDKDKVCKDCKTHCCPPAPPAV
 PSLFPKPKDQTLMSRTPETVCCVVDKHDEPDEWVGVDEHNAKCPREENTYRSLVYLWLDHQJLNL
 GKEVYCNKSLMAPKIEPTKSTGQRPQVYTLPSREMTKNQVSLTCDVSGFVDAIEWESDGGVKNYKTT
 PLYLDSGDSFFLYLTVKDSRWEQDGVFSNMEALHNLYSLTSLSPGKGSGGGGGGGGGGGG/EVLQVSGS
 LVLQVPGGSLRSCAASGFTTSLYAMVNWRRQAPGLVWSENPNDSTNYTSLXGKFTSRDSDKNR
 SLRADTVAITGQCNWPPWGGFSLVW52FAVWGGGLTVLW55

[illegible]

DIYMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQQKPGKSPKALIHYSASYRISGVDPDRFTGSGGSDFTLTISLQ
EDFATYFCQYDYSPLTFLGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLSTLADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

XENP14421 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.30_L1.47) central-scFv

EVQLVESGGGLVQPGSSLRLSKAASGDFDS**PSWNNW**VRQAPGKLEWVS**INPDSSNTYATVSKG**RFTISDRNSKNT
 IYQLMSLRNLAEDTAVVYCAK**GNWEPY**QSGSLTLVSS/ASTGSPVPLAPSSSTGSGTAAACGLTVDFFPEYTVS
 WNSGSLSGVHTFPAVYLAQSGYGLVWYVSSGLIGLWYKTSIKNNWHPKSDYDKVKEPESCDIKCTTPCCAPPAVAG
 PSVLFPPKKPDLMIISRTPEYTCVYVDYKHEDPEKFNWYVDGVEVHNAAKTGPREEYNSYRVVSLVLHQDWLN
 GKEYKCVNSKALPAPIEKTSKAGGPRPEQVYTVLPSPEEMTKNGVSLDVSQGYPSDIAVEWSDGQNPNNYKTP
 PLYKDSGFFSYLVLQWDSRWGSGDQVPSVMEHIAHNHTYQSLSLSPGK

EVLQESQGGGLVPGGSLSCAASGDFDSRWNNWVRQAPGKGLVSEINPDSTINWATVSKQRTISDRNSKNT
LVLQMSLRADTAVVYCYRGNWFPWYGGGTLVLVS/ASTGSPVFLAPSSKSTGGTAAQLGLVDFPEFFVTN
WNSGALTSHVHTFAVPLQSSGLYVQSSGLTVSS/NTKSNHNWHPNSITVDKVEP/SCGGSGGGGG/EVLV
EQMSGLVPGGSLSRCAASGDFSTFSTYNNWVRQAPGKGLVWGRISKNWVSSGGLVSKGRFTSRDSKNTSL
QSGNLRADTAVVYCYRHNGSGDSWAEYAGQGTGLTVSSGSGGSGKPGSGKPGSGGQAVTQFSLTSLP
GGTGLTVCGSSGATVSLNYANWVQGGKSGPRLGICGNNAPGPAPRSPFSGSLGLGAALKQAPDEADQF
WNSYNWYVGGGGLTVL/SGGSGGGGKSTCTPPCAPPPVAGSLVFLPPKPKDLSIRGTAEVNVVVKHDEP
EYKRWYVDGVEGHNAAKTPREQNYSYRVSLVTLHQDVLNGEYKCSKNALPAKFTSKAGQPREQZY
TLPSPREMTQNLQ/KITLCVGLKPYFSDIAVEWSNGKNPENNYTPPVLDSDGSLFYLSKLTVDKSRQGGQVFCSV
MHEALHNHYTKSLSDPSLK

DIYMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQNDVNTAVWYQQKPGQSPKALIIYSASYRSGVPDRFTSGSGGDTFTLTISLQ
EDFATYFCQQYDSYPLTFGGTG/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESFVTEQDSKDSTYSISSTLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP14422 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.30_L1.47) одноплечевое central-scFv

EPKSSDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLIMISRTPEVTCVWVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREE
YNSTYRVSVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGPGENNYKTTPLVDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEEQGDVFCSCVMHEALHNHYTKLSLSLPGK

LYLQVSEGGIGVQGGISRLRASAAGSFPSWJWVWVRQAPLQSGVSESLNDPSSSTVYATSGKGRFISDNRINDN
 VLQMSLRNADFTAVYVYCARGVNWVGGTGGVLTGVSTASPKGVFLPVLASPGSGGTAALCGICVDFPFPVTY
 WSGSGLVGHVGFHVAQSSGVSYSSVTVPPSSJLQPTQVCVNWVHKGPKVNDKVRKESCGGGSGGGGG/EGV/LV
 EGGSGGLVQSGGFLRISCAAGFTTSTAVYVWVRQAPRGLVW/GRISKVNNVYATVDSVQGGFRGTRISDDKNTLV
 QMLNSLRNADFTAVYVYCHNFGNYSVGSFVWGGGTGLVTKKSGPQSGSGSGSGSGSGSGSGVQVTVPQSLVSP
 GGTVTLTGGSGTAVGVWVWVWVWVQXPKPGLGKGGTGNLRKAPGVPARFSGSLGKGAIALTSQAQPEDAEDYCAL
 VYSHNHWVGGGTGLVTLV/GGGGSGGGGGVTLCPCCPAAVYVSPFPFKPKDIPKSTIKETVPCVVDVDEKQEP
 EYKFWNVVDEGVHNAKTPREQYNGSTRVYVTLVTLHDQWLNGKEYKCKVNSLALPHEIKTSKAGKQAPREQVY
 TLPFSREQMTKNQVLTLSVQGVYPSDIAGVSESGQENNYKTPPVVLDSGGFVYSLKVLDKSIRWQGGGNVFCVS
 MHEENHNHYTKLSLPGK

DIYMTGSPSSLSASVGDVRITTCRASQNVDTNWAVYQKPGQSPKALIIYSASYRSGVPDRFTSGSGSDFTLTISLQ
EDFATYFCQYDSYPLTFGGGT/KLEIKRTVAAPSVEIFFPDSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQKWVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLSLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKFSNRGEC

- 45 -

XENP14423 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.30_L1.47) central-Fv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDFDSRWMMNWVRQAPGKLEWVSEINPDSSITNYATSVKGRFTISRDNSKNT
 LYLQMNSLR AEDTAVYYCARYGNWEPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKKEPKSCGGGGSGGGGS/EAQLV
 EGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMNWNVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYVADSVKGRFTISRDNSKNTLYL
 QMNSLR AEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS/GGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSITRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCK
 VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQENNYKTPPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

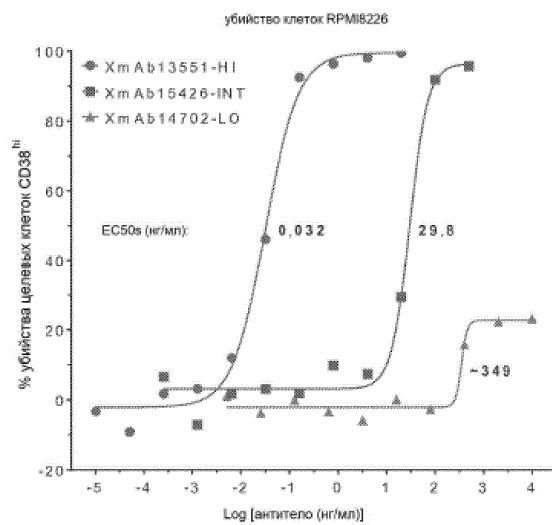
HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDFDSRWMMNWVRQAPGKLEWVSEINPDSSITNYATSVKGRFTISRDNSKNT
 LYLQMNSLR AEDTAVYYCARYGNWEPYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKKEPKSCGGGGSGGGGS/QAVV
 TQEPSTLVSPGGTVLTLCGSSGTGAVTTSNANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPAFSGSLGGKAALTISGAQPE
 DEADYCYALWYSNHWYFGGKTLVL/GGGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
 VDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
 QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESMGQPENNYKTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQ
 GNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

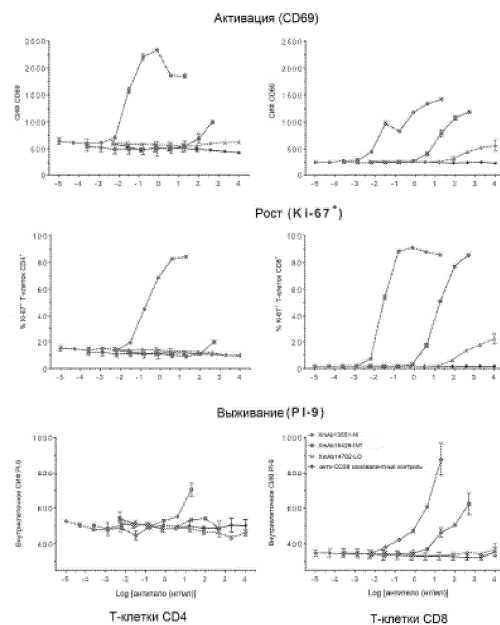
LC (SEQ ID NO:XXX)

DIVMTQSPSSLSASVGRVITTCASQNVDTNVAWYQQKPGKSPKALYASRYSGVPDRFTGSGSGTDFLTISLQDP
 EDFATYFCQQYDYPILFGGGT/KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVIVCLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Фиг. 43



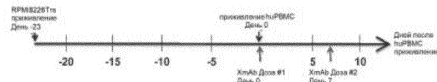
Фиг. 44



Фиг. 45

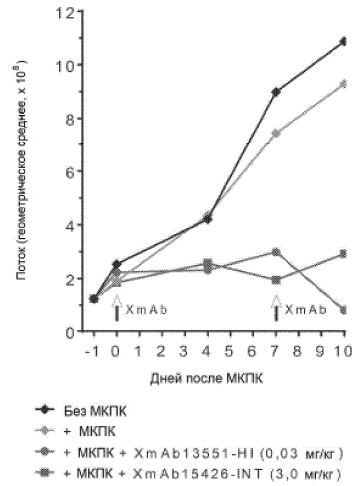
Дизайн исследования

- мышам NSG приживляли 5×10^5 RPMI8226TrS клеток (множественная миелома, люциферазо-экспрессирующая)
- мышам приживляли ВБ (внутрибрюшинно) 10×10^5 человеческих МКПК в День 0
- мышей лечили ВБ +/- биспецифическими антителами в День 0 и 7
- массу опухоли оценивали с помощью биолюминесцентной визуализации (IVIS Lumina III)



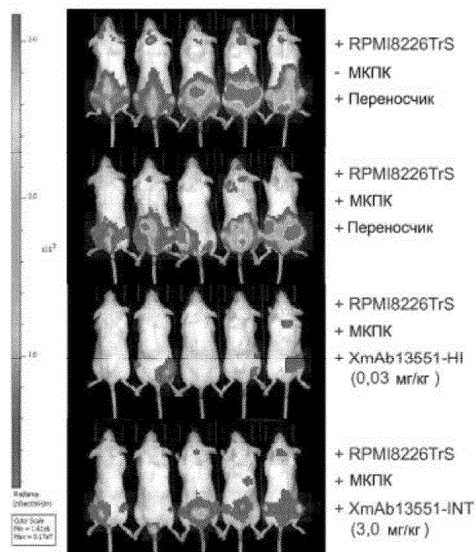
Фиг. 46

Изменение группового среднего потока vs время

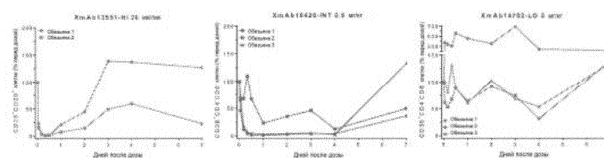


Фиг. 47

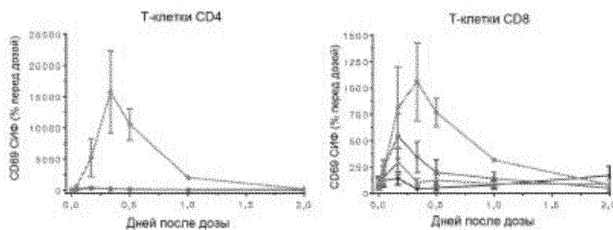
Биолюминесцентные снимки (День 10)



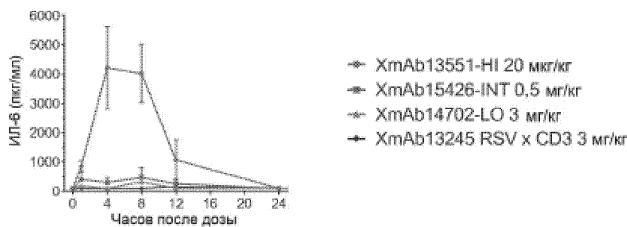
Фиг. 48



Фиг. 49



ФИГ. 50



Фиг. 51

XENP15427 анти-CD38 (ОКТ10_H1L1) x анти-CD3 (H1.31_L1.47) одноплечевое mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EPKSSDKTHTCPAPPAVAGSVFLFPKPKDTLMSIRTEPVTGVVVDVKHDEPVKFNWVYDGVGVHNAKTKPREE
YNSTYRVSVSLTVLHQDWLNGKEYCKVSKNALPAIEKTIKAKGPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGPENNYKTPPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTKSLSLSPGK

HC 2 {SEQ ID NO:XXX}

[illegible]

LC (SEQ ID NO:XXX)

DIYMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQNYDINVAWYQKPGQSPKALISASRYSGVPRDFTGSGSGTDFLTITSLQP
EDFATYFCQDYDSYPLTFGGGKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKFSNRGEC

ФИГ. 52

XENP15428 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.33_L1.47) одноплечевое mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EPKSSDKTHTCPFCAPPVAGPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKAKTPREE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQENNYKTTPLVDSGDFLYSKLTVDKSRWEEQGDVFCSCVMHEALHNHYTKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

LYVLSQSSGGIVQPGSGSLAASGDFPSSWYMMVRQAPGGKLEWVSEINPDSSTINYATVSGKLFRTISRDSKNT
LTVQMSLSRAEDTAVVYCARCYGNWFFWYVQGVTLTVTSV/ASTKGSPVFLPASPSTSGGATLGVCLFVDFEPPVTV
WNSGALSQVHTFAVLAQSSGLSYSSVQVTPSSSLGTQVYCNHNHPSNTKDKVEKSCDKTHTCPCPAPVAVG
KPEYFLPPKPDLTPIESTPEVTCVVDKVEHDFKPVNMMVGVGVENHNAKTPREEQYNSYTRVSVLTVLQHDWLN
GSYKCVSKSNALPARIETSKAGQPREQVTLTPSPREQMTKQVKLTCLGVGVPSDIAVEQSDSPENQNNYKTV
PPVLDSSGDFSLYKLVTDKSRNQDQGNVFCNMHEALHNHVTQKLSLSPGKGKGGSGGGSGGGSEVLQVSEV
LVQPGQSGSLSCAASGFTSYAMNMMVRQAPGGKLEWVHNRISKNGYATVYADSGKLFRTISRDSKNTLYLQM
NSLRAEDTAVVYVCRHNFNGDSSWYDFWQGGATLVTVSSGKPSGRKPSGKSGKPGQAVQEPSLTVPSGGT
VTLTCGSGTAVTITSNYKMMVQKQKPSRGLGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKALVTSQAQVEDPADQYTVLTV
NHVWFGGQKTLVL

LC {SEQ ID NO:XXX}

DIVMTYQSPSSLASVGDRTVITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSFKALIVSASRYSGVDPDRFTGSGSGDFTLTISLQ
EDFATYFCQYQDYSYPLTFGGGTLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAVQWVKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKKH/VYACEVTHQGLSSPVTKFSNRGEC

ФИГ. 53

[illegible]

KNP15430 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.31_L1.47) однополоеное central-scFv
HC 1 (SEQ ID NO:XXX)
 EPKSDKHTKTPCCPAPVAGPVSVFLFPKPKDLMISRTPEVSGGVVVDKHEDEPEVKFNWYDGVGVHNNAKTPREE
 YNYSYRVSVSLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLSPREEMTKNQVSLTDCYGVSF
 DIAVEWESDGGCPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGDVFCSVMHAEALHNHYTKQSLSLSPGK
HC 2 (SEQ ID NO:XXX)
 EVQLVESGGGLYQPGDSLRLSCAASGGDFDS**RSWNN**WVRVQAPGKGLWV**SEINPDS**SGSYGKGRFTISRDNSKNT
 LYLQMNSLRDELATVAVYCAR**YGNW**EPYKPGQGLTVTSVYASTKGQVPSKSTGGTAALGLVQLVDFEYFPVTVS
 WNSGALTSPGGSLRFAVLQSGYSLSSVTVTPSSSLGTQTICNWHKPSNTKYDKVKEPKSGGGGSGGGGSEVQLVE
 SGGSLVQLTQSGDSSLRLSCAASGFT**PTYS**AMWVRQAPGKLEW**GRISRS**SNYATY**YADSV**LRFTISRDNSKNTLYL
 MNSLRDELATVAVY**CVRNG**FDSPYKPGQGLTVWGQGLTVTSVSGKPGSGKPGSGGSGYKPGQGLVAVTQEPVTVSP
 GNTVLTQSGSGGAVT**TSN**YANWVQGGQGGKPKSTGQGL**GNTR**APGVAFRFSGGSLGGKAALITGAQGEDEADY**CDLW**
SYHYLYVFGGGLTKLVGQGGGQGGKSTGTPCCPAPVAGPVSVFLFPKPKDLMISRTPEVSGGVVVDKHEDEPEVK
 FNWYDGVGVHNNAKTPREEQYNSTYRVSVSLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAIEKTIKAKGQPREPQVTLSP
 PREEMTKNQVSLTDCYGVSFPTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGGVFNCSVMHAEALHNHYTKQSLSLSPGK
LC (SEQ ID NO:XXX)
 DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCR**ASQ**ND**VD**NT**NVA**WYQKPKGQSPKALY**SAST**RTSGVPDRFTGSGSGTDFLTITSLSPQ
 EDIATFATY**CCQ**YDSY**PLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLINNNFYPREAKVQGVKVDNALQSGNS
 QVSTVEVDQSDKSTYLSLSTLTKADYEKKHKVYACEVTHQGLSPSVKTSFNRRGEC

KNP15431 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.33_L1_47) одноплецовое central-scFv
 HC 1 (SEQ ID NO: XXXX)
 EPKSSDKITCPCCPAPVAGPSVFLFPNPKDTLMISRTPEVTCVVVDK~~H~~EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
 YSNLRYVTSVLTPLTQHDWLVNGEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVTLTPPSREMTKNQSLTCDVSGFYPS
 DIAVEWESDGGPENNYYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTKLSLSLSPGK
 HC 2 (SEQ ID NO: XXXX)
 EVLQVESGGGLVQPGGSLRLCAASGDFGFSRWMMNWVRQAPGKGLWVSWINPDSSTINYATSVKGRFTISRDNSKNT
 LYLQMNSLRRAEDTAVYYCARYGNWFFPWGGGLTVTSVASTKSGPSVLPAPLSPKSTSGGTGAALGCLVDYFPEPVTYS
 WNGSALTSGGTSTFAVLVQSSLYSSSVTPPSSLGTLQTCIVNHNPKSPNTKYDKRVEPKSCGGGSGGGGGSEVQLVE
 SGGGLVQPGGSLRLCAASGTFSTYFAWVRQAPGKGLWVGRISKYGKPNYATSVKGRFTISRDTSKNTLYLQ
 MNSLRRAEDTAVYYCVRHNGFGDSYVSWFAWVGQGITVTVS~~S~~SGGPKSGGPKGPKGQGVQAVVTQEP~~S~~LTSPG
 GTYTLTCSGSGGAYTSTINLVGGGQPKGSPPRGSLGTSNKRAQGFAPRFSGSGGKGAALTSIGAQPEDVDYYCALYAL
 VVWVNGVGGGLTGLTVANWGGGGGGGGKSTPCPCPAPVAGPSVFLFPNPKDTLMISRTPEVTCVVVDK~~H~~EDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNTSTYRVSVLTPLTQHDWLVNGEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVTLTP
 PSREMTKNQSLTCDVSGFYPSDIAVEWESNGQPENNYYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMH
 EALHNHYTKLSLSLSPGK
 LC (SEQ ID NO: XXXX)
 DIYMTQSPSSLSASVGRDITTCRASQNPDTNLVAVWYQKPGQSPKALYSYSGVGPDRFTGSGSGDTFTLTISLQP
 EDATFSPCSQYSPYTLTGGGTLKLEIR/RTAAVSPYIFSPSDQLKSSAVSCLNNFNPYREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSITSSLSLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

- 49 -

XENP15432 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.30_L1.47) однопечевое central-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EPKSSDKHTPCPCAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREE
YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDV/FSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSS**TINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVVYCARY**GNWFEF**YWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKYDKKVEPKSCGGGGGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY**AMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKYNNYATYVADSVKGR**FTISRDDSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVVYCV**RHGNFGDSIVSWFAY**WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTCQEPSLTVSPG
GTVTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**STNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDADYY**CALW**
YSNHWVFGGGLKLTVLGGGGGGGGGSKTHTCPCAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVK
FNWVVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTL
PSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:XXX)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITTC**RASQNV**DTNVAWYQKPGQSPKALIV**SASYR**YSGVPDRFTGSGSGTDFLTISLQ
EDFATYFC**QYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNINFPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 57

XENP15432 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.30_L1.47) однопечевое central-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EPKSSDKHTPCPCAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREE
YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPS
DIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDV/FSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSS**TINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVVYCARY**GNWFEF**YWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKYDKKVEPKSCGGGGGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY**AMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKYNNYATYVADSVKGR**FTISRDDSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVVYCV**RHGNFGDSIVSWFAY**WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTCQEPSLTVSPG
GTVTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**STNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDADYY**CALW**
YSNHWVFGGGLKLTVLGGGGGGGGGSKTHTCPCAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVK
FNWVVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTL
PSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:XXX)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITTC**RASQNV**DTNVAWYQKPGQSPKALIV**SASYR**YSGVPDRFTGSGSGTDFLTISLQ
EDFATYFC**QYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNINFPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 58

XENP15434 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.33_L1.47) mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSS**TINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVVYCARY**GNWFEF**YWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKYDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTT
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDV/FSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPS**RSWMN**WVRQAPGKGLEWVSE**INPDSS**TINYATSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVVYCARY**GNWFEF**YWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKYDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGSEVQLVESG
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY**AMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKYNNYATYVADSVKGR**FTISRDDSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVVYCV**RHGNFGDSIVSWFAY**WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTCQEPSLTVSPG
GTVTLT**CGSSTGAVTTSNYAN**WVQKPGKSPRGLIG**STNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDADYY**CALWYS**
NHWVFGGGLKLTVL

LC (SEQ ID NO:XXX)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITTC**RASQNV**DTNVAWYQKPGQSPKALIV**SASYR**YSGVPDRFTGSGSGTDFLTISLQ
EDFATYFC**QYDSYPLT**FGGGTKLEIK/RTVAAPSFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNINFPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 59

XENP15435 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.30_L1.47) mAb-scFv

LYVLVSGGGGLVPGGSLRLAASGFGFSP**SYM**WNVWRQAPAGKGEWSEIN**DPSS**TINYATSYSGVLTISRDNKINT
 LVQLMNSLRGHTVAHYVCAPY**SYN**WVWGQGLTLTVTS/ASTKNGVFPVLAPSSCSGGTAAAGCLGLDFFPEPVTV
 WNSGALTSWDAEPTAVVLQSGV**SY**LVVFTVPSLGLQYATIGCNVNHKPSITDKVKEVPSCKDTHCCPPCAFPVAG
 PSYFLVFPKPKDMLISRPTEVTVGVVDVHKHEVFXFNWYDGEVHNNAKTPREEYENSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKKEYCKSVNKALPAPIEKTSKAKGVQPCPVQVTVPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDAVEWESDQGNENKTPP
 PVLSDSGVFLYSKLTLDVSRWEGQGVSPSCMHEALHNHNTQSLSSPGK

LQVLYSGEVSQVGGGSRISLCAASGDFISBWMVWVQAPKGLVEVSEPNDSITISVGLKGFRTISDNKSTL
 LYLQMNLRDAETAVYVYCARQNYGVFWPGWQGLTVVVS;ASTKQSVPLPASCSTSGTGAALGKGLDFPYEPVTV
 PWSGALFISGVTHTFPAVLQSGVTSVTVVSPSSGLQTVGVNHNKPSITKDYKEVFKSCDITHTCCPPAPVAG
 VFWFPPKPKDITLSPETQVTCVVDVHDEVFKNVWQYDIEVHNNAKTPREKSTISRVVSLTVLHDQLN
 GKEYCKVKNKAMPIAKETISKAGQPREPQVTPPSREQMTNKQVTLCLVKGPSGDSGSEVSENGQENNYKT
 PPLYVDLSGFYSLIYLVTKDWSKQVSGVFCVSMHEVHLYQKLSLSFGKGGGGGGGGGGGGSEVQLVSE
 GQVGPQGSRLSRLCAASGFTSYAMYNVWQAPQKGLVEVGRBKSQVNNYATVYADVSGKGFRTISDNLKTVL
 NLSRLAETAVYVYCHRGNDFSYVFWAGVWQGLTVVSSGPKQVGLVSGGGKQVSGGGKQVSGVTPSLVSGGT
 VTLTCSGSGAVTISNHYANVWQKPKSPRGUGGTNKRPAGVPARFSGSLGGKGAALTSGAOPEADDEAYLV
 NHWVFGGGLKTVL

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQQKPGQSPKALISASVYRSGVPRDFTGS6SGDFTLTISLQPEDFATYFCQYDSYPLTIFGGGKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKOSTYSLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

XENP15436 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.31_L1.47) central-scFv

LYVLVEGGGLVPGGSLRLCAAGGDFPSWIMNWNVRKAGKLEWSEINPDSSTINATYSVSGRLTISDRMSKNT
LQMLNLSRAEDTAVVYCARVGNWFPYWGQGLTLTVSS/AKSTQSPVFLPAISKSTGGTAAAGCLTVDFPEPVTY
WNSGALTSGVHTPAFVYSGYVSGVWYVSSGLGTQTYICNVHPHSDTKVKKVEYSCDITHTCCPPACPAVAG
PSEYFLPPKPKDILMSRTEPVTGVVDVHKHEDPEFKVFNWYDGEVNHAKTLPREEYENSTYRVSVTLVHQDWLN
GKCYCKVSNKALPAVIEKTSKAGKQPREQVYTLPSREEMTKNQVSLTCDVSGFFYPSDIAVEWSDGQGNFNKTPP
PVLDSGGFSFYLVQLKSRWEGQGVDFSCVNMHEALNHQTKSLSPGK

LQVLVEQVSGQVGGPSRLCAASGDFR~~SMW~~WNRQAPGKLEWSE~~INDPSTST~~YATSVSGKRTFSDNSKNT
 LQIMNSLRAEDTAVYVC~~RYG~~YN~~EPW~~YWGQGLTIVTSV~~ASTK~~GPVPLA~~AS~~SSSGTGAALGCLVKDYRIPDSN
 WNSGALTSVGHPTFAVLQVSGYLS~~SV~~SSVYSSSGLTQYTCVNNYATVDK~~VEP~~CKSGGGGSGGGSEVQLV
 SGGVQGLQPSGLCAASGFTTSTY~~AM~~SWVRQAPGKLEW~~GRIS~~RYNNYATY~~AD~~SVSGKRTFSDOSKNTLQ
 LMSLRAEDTAVYVC~~RH~~GNFSDSY~~W~~FAYWGQGLTIVTSK~~SG~~SGKGGSGKGGSGQVAVTQVTSVSG
 GTNLTLC~~GSST~~GAATVNNWQVKQPSGRLIGL~~TN~~KKAPVPA~~RF~~AS~~SS~~SLGGALSGAALTEADQDEADYCALV
 YNNYWGQGLTIVTSK~~GG~~SGSGGGSGGKSTCHCCPAAVAG~~VS~~FP~~PP~~KKDMLM~~RI~~RTPEYTCVYVDK~~WH~~QPE
 NVNVDGVGVHN~~AK~~IKTPRGGYYS~~TV~~RSVSLYTLHQD~~WL~~GVK~~YK~~CVNSKALPAK~~RI~~STSEY~~AK~~KGQ~~RP~~QYTL
 PSE~~RL~~KNQKQVLTCLVKGYGSPDIAVE~~WS~~NGNQ~~PP~~NNYKTP~~VP~~LVLS~~DS~~GS~~GF~~YS~~KL~~TV~~DK~~SRWQ~~Q~~GNVY~~SC~~SMVH
 LHMNH~~Y~~TKQSL~~IS~~SPGK

DIYVMTQSPSSLSASVGDRVYITCRASQNDVTNVAWYQQKPGQSPKALIASYRYPSGVPDRFTGSGSGDFTLTISLQPE
EDFATYFCQQDYSPYPLTGGGGKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKFSNRGEC

XENP15437 анти-CD38 (OKT10_H1L1) x анти-CD3 (H1.33_L1.47) central-scFv

YQLVYSGGGVLQPGGSLIRPAAAGSGDFPSRWMVWRRQPGKGLWEVSEINPSSSTINHYATSVKGRFTISDPSNKNY
LQJQMSLRADETAVVYCAVYGNWFFYWGUGLTQTVTS/ASTKSGPSVPLAPSSSGTGGTAAGCLGVDFPEYPPVY
WNSGALSTGATVYVYVAGSYSGLSYSEYVPSLSGTLQVYINHPHSDTKVDKVEKPELQTLTCCPPACPVYAG
PSYFLPKPKPDMLSRITPEVTQYQVDVHKDEPFWKMWYVDGVYHNAKTKPREEYNSYTRVSVSLTVHQDWLNL
GKEYCKSVSNKALPAIEKTSKAKGQPRQPVYTLPSRREMTKNQVSLDGVSGFYPSDAIWESEDGQCPNENYKTP
PVNDYSGFSFLYSLYPSRWFEGQDVSFSGVMEALHNHYTKQLSLSDPGK

YVLQVMSGLQVOPGSRIRAAASGDFRSBWMMVWQAPQKGLVWVSESNPDSTINYATKSGRRTFRTSDNSKNT
LYLQMSNRAEDYATVYCARGVNMYWGGTGLTVVTS/ASTKSPVLPVSSSGTSGGTAALGKGLVDFPEYPTV
WSNGSLATVQWTFPVALQVLSVSVVTPFSSLGTQYTCVNNKNTVDKVEPKYACGGSGSGSGGGEVLOV
SGSLGVQGGSLRSACASGFTSYTAMSWQAPQKGLVWGRISXNNYNTATKSGRRTFRTSDNSKNTLYLQ
MNTLRATVYATVYRHNGEDSYVSWAYTWGGTGLTVVSGSGPKGSGSGPKGGSGKGGVOTFQPSLTVSP
GTVSLTGSSTGAVTNYNVMWQKQPSGLGLGGLTKNRKAPGLPAPRSGLGLGKALTGAISQAPEDEAYALV
YSHNYWFGGGTGLTVQSGGGGGGGKTHCTPPCCAPVAGPSVFTVFPKPKDMLSTRFEATVGVVVDHDEPEV
NNVVDGVENHNAKTPRREQYNTYRVSVSLTHQDWLVGEKYCKSNALPIAKETSIAKGGPRPQVLTVP
PSREQMTKNQVLTLCVYFGPSDIAVEVSNQGPENNYTKTPVLVDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSYH
EALHNYHMYGLSIPXK

DIIVMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNVDTNVAWYQKQPGQSPKALISASRYSGVPDRFTGSGSGDTFTLTISLQPE
EDFATYFCQQYDSYPLTIFGGGKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAVQVWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

- 51 -

XENP15437 anti-CD38 (OKT10_H1L1) x anti-CD3 (H1.33_L1.47) control-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSPSRIMQHWVRQAPGKGLHWSEINPDSSITHYATSVKGRFTISRDNSKNT
LYIQMNSLRAEETAVYYCARVGHNFPYWGQGTLVYSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVKVEPKSCDXTHTCPKCPPVAG
PSVTEPPPKDITLMSRTPEVTQVVOVKHEDPEVKRWVVGVEVHNAAIKPREEDNSTYRWVSVLTLDQDNLN
GKEYKCVSNKALPAPIETISKAGQPNRPQVYTPPREEMTNKQVSKTCDVSGFPYPSDAVEVESDQGPENNYKTP
PVLDSGSGFLYSKLTVDKSRWFGQGVFSCSVMHENHNHYTQKSLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:XXX)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSPSRIMQHWVRQAPGKGLHWSEINPDSSITHYATSVKGRFTISRDNSKNT
LYIQMNSLRAEETAVYYCARVGHNFPYWGQGTLVYSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVKVEPKSCGGSGGGSGGEVQVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMSWVRQAPGKGLHWGHEISKYNNIATYAGSYKGRFTISRDNSKNTLYQ
MNSLRAEETAVYYCARVGHNFPYWGQGTLVYSSGAPPSGKPSGKPGGKPSGQAVVQEPQTVSFG
GTVTLTGSSIGAVTISNYANVQKPGKSPRGIGGINKRAPGVPAFSGELSGRAALTSGAQPEIDADYYCAR
VSNHKAIFGGGTITLVGGGSGGGGSKTHYCPKCPPVAGSVTLFPPKPKDITLMSRTPEVTQVVOVKHEDPEVK
RWVVGVEVHNAAIKPREEQNHSYRWVSVLTLDQDNLNKEYKCVSNKALPAPIETISKAGQPNRPQVYTP
PSREQMTKKNQVLTCLVGGFPYPSDAVEVESDQGPENNYKTPPVLDSGSGFLYSKLTVDKSRWQGGVNVSCSVNH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:XXX)

DIVMTSPSSLSASVGDHVTTCRASQHVDTNVAWVQKPGGSKALNSASTYISGVPEPFTSGSGGTDFLTLSLQ
EDFAFYTCQYDSYPLTLAGGKLEIKRTYAAPSVFIFPPSDFQKSKGTASVCLLNNFYPKAVQWKNVDAALQSGVYS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYKHNVVACEVTHQGLSSPYTSFRRGEC

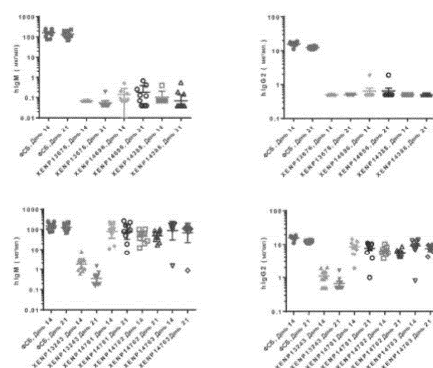
Фиг. 63

ХЕНР	CD38 аффин- ность	αCD3 scFv-Fc	K _d (нМ)*	Кратность уменьшения в связывание CD3 от H1.30_L1.47
13243	низкая	H1.30_L1.47	4.91	1
14701	низкая	H1.31_L1.47	1640	330
14702	высокая	H1.31_L1.47	1640	330
14703	очень низкая	H1.31_L1.47	1640	330

Фиг. 64

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

Фиг. 65



ФИГ. 66

VH ID	VL ID	VH замены	VL замены
H1	L1.4		
H1.30	L1.47	N305/N100D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.33	L1.47	N305/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.31	L1.47	N305/N355/N100D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.32	L1.47	N305/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.88	L1.47	N305/N100P	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.89	L1.47	N305/N100D/S100AE	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.90	L1.47	N305/N100D/S100AP	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.91	L1.47	N305/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.92	L1.47	N305/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.93	L1.47	N305/N100E	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.94	L1.47	N305/N100Q	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.96	L1.47	N305/N100D/S100AN	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.97	L1.47	N305/N100D/S100AQ	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.98	L1.47	N305/Y52CA/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.99	L1.47	N305/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.100	L1.47	N305/N100A/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.101	L1.47	N305/N100Q/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.102	L1.47	N305/N100D/S100AE/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.103	L1.47	N305/N100D/S100AN/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.104	L1.47	N305/N100D/S100AP/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H
H1.105	L1.47	N305/N100D/S100AQ/A101D	Q42K/A43S/L75J/E85D/L95H

Фиг. 67А

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

Фиг. 67В

Последовательности анти-CD3

H1.1.4

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD
KNTLYLQMNSLAEDTAVYYCVRHNGFGDSYVSFAYWQGGLTVTSYSGKPGSGKPGSGKPGSQAVYTQE
PSLTSPGGTVTLTGSGSTGAVTSTNYANWVQKPGKSPRLIGGTVKRAPGVPARFSGSLGGAALTSIGAQPEDF
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVROAPGKGLEWVGRIKSYNNYATYYADSVKGRFTISRD
DKLTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWQGGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVPGGTGLTLCGSSTGAVTISNYANWVQKPGKSPRLGIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKITLV

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDS
KNTLYIQMNSLRADTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTS

SEQ ID NO:XXX

QAWTQEP^{SL}TVSPGGTV^{LT}CGSS^{TG}AVTTS^{NI}YANW^{VQ}QKPGKSPR^{LG}IG^{TN}KRAPGV^{PA}RFSG^{SL}LGGKAA^{LT}IS
GAQPEDEADY^YCALWYSNHW^VFGGG^TKLT^VL

Фиг. 68А

H1.30_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68B

H1.33_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68C

H1.31_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68D

H1.32_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAIWGGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68E

H1.88_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGPSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68F

H1.89_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68G

H1.90_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPTVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPTVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPTVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68H

H1.91_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTIVLTGCGSSGTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68I

H1.92_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTOEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68J

H1.93_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTOEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68K

H1.94_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSTVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSTVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSTVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTOEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68L

H1.96_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYSWFAIWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYSWFAIWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTOE
PSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYSWFAIWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTOEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLUGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68M

H1.97_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDQYVSWFAYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDQYVSWFAYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDQYVSWFAYWGQGTLLTVTS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68N

H1.98_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDSYVSWFEDYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDSYVSWFEDYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDSYVSWFEDYWGQGTLLTVTS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68O

H1.99_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDSYVSWFEDYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDSYVSWFEDYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATAYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGDSYVSWFEDYWGQGTLLTVTS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68P

H1.100_11.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGASVSWFEDYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGASVSWFEDYWGQGTLLTVTSYGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIHGNFGASVSWFEDYWGQGTLLTVTS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68Q

H1_101_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGGGTLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68R

H1_102_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGGGTLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68S

H1_103_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGGGTLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68T

H1_104_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPPVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPPVSWFDYWGGGTLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPPVSWFDYWGGGTLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68U

H1.105_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDQVSWFDT~~WVGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKR~~APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDQVSWFDT~~WVGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKR~~APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDE
ADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDQVSWEDY~~WVGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

Фиг. 68V

H1.106_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDSYVSWFAY~~WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDSYVSWFAY~~WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDSYVSWFAY~~WGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

Фиг. 68W

H1.107_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGASTVSWFAY~~WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGASTVSWFAY~~WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGASTVSWFAY~~WGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

Фиг. 68X

H1.108_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDSYVSWFAY~~WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDSYVSWFAY~~WGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMN~~WVRQAPGKGLEWVGRI~~SKANNYATAYADSVKGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRH~~GNFGDSYVSWFAY~~WGQGLTVTVSS

SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGT~~NKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDEADYYCALWY~~SNHWV~~FGGGTKLTVL

Фиг. 68Y

HL109_L1.47

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATAYADSVKGRFTISRD
SKNTLYLQMNSLRADTAVYCYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGGHHHHH

SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATAYADSVKGRFTISRD
SKNTLYLQMNSLRADTAVYCYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPED
EADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

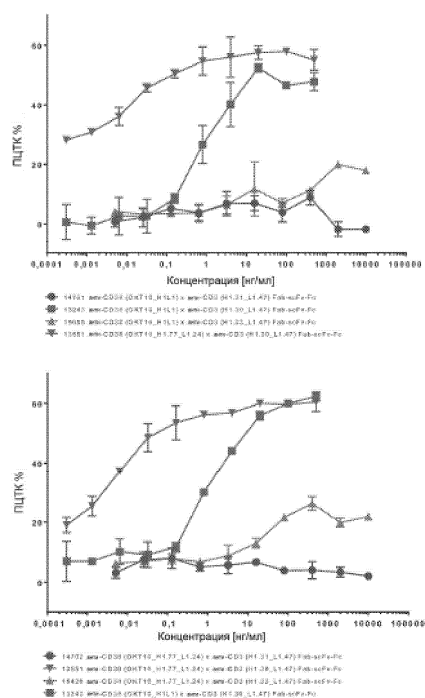
SEQ ID NO:XXX

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIISKANNYATAYADSVKGRFTISRD
SKNTLYLQMNSLRADTAVYCYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSS

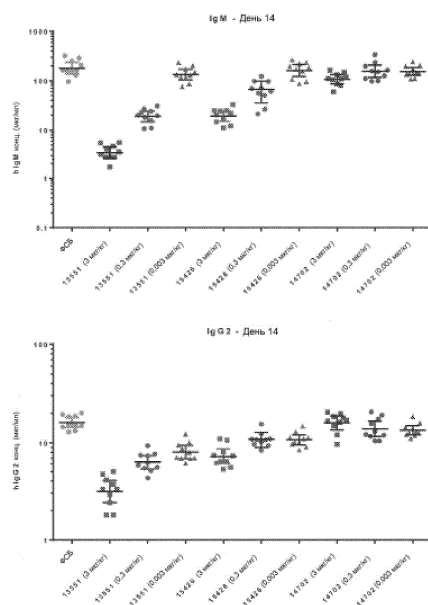
SEQ ID NO:XXX

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTIS
GAQPEDADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Фиг. 68Z



Фиг. 69



Фиг. 70

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

HC 1 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY**WMN**WVRQAPGKGLEWV**SEIN**PDSTIN**YATSV**KGRFTISRDNSKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFF**WVGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEYNSYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTP
PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY**YAMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKANN**YAT**TYADSV**KGRFTISRDD
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**VRHGNFGDSY**SWFAWVGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTC**GSSTGAVT**SNYANWVQKPGKSPRGIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDE
ADYYC**ALWYSNHW**VFGGGTKLTVL/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQV
YTLPPSREQMTK**KNQ**KLTVLCKVGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQDGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:300)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTTC**CRASQNVDT**WVAWYQKPGQSPKAL**YASVRY**SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
PEDFATYFC**QYD**SYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 71

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

HC 1 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**SR**W**MN**WVRQAPGKGLEWV**SEIN**PDSTIN**YATSV**KGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFF**WVGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEYNSYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTP
PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**YAMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKANN**YAT**TYADSV**KGRFTISRDD
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**VRHGNFGDSY**SWFAWVGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTC**GSSTGAVT**SNYANWVQKPGKSPRGIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDE
ADYYC**ALWYSNHW**VFGGGTKLTVL/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQV
YTLPPSREQMTK**KNQ**KLTVLCKVGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQDGNVFCSC
VMHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:300)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTTC**CRASQNVDT**WVAWYQKPGQSPKAL**YASVRY**SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
EDFATYFC**QYD**SYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGN
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 72

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

HC 1 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**SR**W**MN**WVRQAPGKGLEWV**SEIN**PDSTIN**YATSV**KGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFF**WVGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEYNSYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTP
PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**YAMN**WVRQAPGKGLEWV**GRISKANN**YAT**TYADSV**KGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**VRHGNFGDSY**SWFAWVGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQ
PSLTVSPGGTVTLTC**GSSTGAVT**SNYANWVQKPGKSPRGIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDE
DY**YCALWYSNHW**VFGGGTKLTVL/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQV
YTLPPSREQMTK**KNQ**KLTVLCKVGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQDGNVFCSCV
MHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:300)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTTC**CRASQNVDT**WVAWYQKPGQSPKAL**YASVRY**SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
PEDFATYFC**QYD**SYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 73

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

HC 1 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**SR**W**MN**WVRQAPGKGLEWV**SEIN**PDSTIN**YATSV**KGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY**GNWFF**WVGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEYNSYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGPENNYKTP
PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**YAM**SWVRQAPGKGLEWV**GRIRSKYNN**YAT**TYADSV**KGRFTISRDD
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**VRHGNFGDSY**SWFAWVGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQ
PSLTVSPGGTVTLTC**GSSTGAVT**SNYANWVQKPGKSPRGIG**GTNKR**APGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDE
DY**YCALWYSNHW**VFGGGTKLTVL/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTPKREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAGGQPREPQV
YTLPPSREQMTK**KNQ**KLTVLCKVGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQDGNVFCSCV
MHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:300)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTTC**CRASQNVDT**WVAWYQKPGQSPKAL**YASVRY**SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
PEDFATYFC**QYD**SYPLTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 74

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

HC 1 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPSRWMMNWRQAPGKGLEWVSEINPDSSITINATSVKGRFTISRDNKNT
 LYQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPWGGTLVTYSS/ASTKGPSVFLAPSSKTSGGTAALGCLVDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSGSLYSVSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEEYNSTYRVVSVLTHLQDQLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQENNYKTP
 PVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
 NTLYQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVWEDTWGQGLTTLTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQE
 PSLTVPSPGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVWQKPGKSPRGUGGTNRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEA
 DYICALWYSNHWVFGGDKTLTVL/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDP
 EVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTHLQDQLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVY
 TLPPSREEMTKNQSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQENNYKTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGDGNNVFCV
 MHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:300)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALYASRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
 EDFATYFCQQVDSYPLTFGGGTLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 75

XENP18973 антн-CD38 (OKT10_H1L1) x антн-CD3 (SP34_H1.31_L1.47) mAb-scFv

HC 1 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPSRWMMNWRQAPGKGLEWVSEINPDSSITINATSVKGRFTISRDNKNT
 LYQMNSLRAEDTAVYYCARVGNWFFPWGGTLVTYSS/ASTKGPSVFLAPSSKTSGGTAALGCLVDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSGSLYSVSVTPVSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEEYNSTYRVVSVLTHLQDQLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQENNYKTP
 PVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSPGK

HC 2 (SEQ ID NO:300)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
 NTLYQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVWFAWGGQGLTTLTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQE
 PSLTVPSPGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVWQKPGKSPRGUGGTNRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQPEDEA
 DYICALWYSNHWVFGGDKTLTVL/EPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDP
 EVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTHLQDQLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVY
 TLPPSREEMTKNQSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQENNYKTPPVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQGDGNNVFCV
 MHEALHNHYTQKLSLSPGK

LC (SEQ ID NO:300)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVDTNVAWYQKPGQSPKALYASRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQ
 EDFATYFCQQVDSYPLTFGGGTLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Фиг. 76

		High CD3	High-Int #1 CD3	High-Int #2 CD3	High-Int #3 CD3	Int. CD3	Low CD3
	антн-CD3	антн-CD3	антн-CD3	антн-CD3	антн-CD3	антн-CD3	антн-CD3
		H1.30_L1.47	H1.32_L1.47	H1.89_L1.47	H1.90_L1.47	H1.33_L1.47	H1.31_L1.47
High CD38	OKT10 H1.77_L1.24	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
Int CD38	OKT10 H1.11.24	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F
Low CD38	OKT10 H1.11	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F	A, B, C, D, E, F

Фиг. 77

